(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115087689 A
(43)申请公布日 2022.09.20

(21)申请号 202180014471.6
(22)申请日 2021.01.19
(30)优先权数据
2020-021678 2020.02.12 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.08.12
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2021/001579 2021.01.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/161732 JA 2021.08.19
(71)申请人 株式会社钟化
地址 日本大阪府
(72)发明人 平野优
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 沈雪
(51)Int.Cl.
C08J 3/16(2006.01)
C08G 63/89(2006.01)

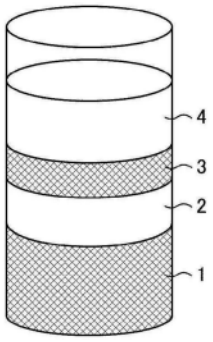
权利要求书1页 说明书12页 附图1页

(54)发明名称

聚羟基烷酸酯的制造方法及其利用

(57)摘要

本发明的目的在于提供能够以简便的操作高收率地得到PHA的制造方法。本发明通过提供下述聚羟基烷酸酯的制造方法来解决上述课题，该方法包括：(a)制备pH为5以下的聚羟基烷酸酯水性悬浮液的工序；(b)将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序；(c)通过对上述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离，然后去除上述水相的工序；以及(d)对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热，然后冷却，得到凝胶状的聚羟基烷酸酯的工序。



CN 115087689 A

1.一种聚羟基烷酸酯的制造方法,该方法包括:

(a)制备pH为5以下的聚羟基烷酸酯水性悬浮液的工序;

(b)将所述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序;

(c)通过对所述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,然后去除所述水相的工序;以及

(d)对所述工序(c)中得到的所述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的聚羟基烷酸酯的工序。

2.根据权利要求1所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,该方法进一步包括:

(e)利用有机溶剂对通过所述工序(d)得到的所述凝胶状的聚羟基烷酸酯进行清洗,然后干燥,得到聚羟基烷酸酯凝聚体的工序。

3.根据权利要求1或2所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

在所述工序(c)中包括:将所述混合液从下起依次分离为聚羟基烷酸酯相A、非水溶性有机溶剂主成分相、聚羟基烷酸酯相B及水主成分相,将所述聚羟基烷酸酯相B及所述水主成分相去除的工序。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

在所述工序(c)中,以下的式(1)所示的值为45%以上,

聚羟基烷酸酯相A的体积/(聚羟基烷酸酯相A的体积+聚羟基烷酸酯相B的体积)×100・・・(1)。

5.根据权利要求1～4中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

所述非水溶性有机溶剂为选自三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯及三丁酸甘油酯中的至少1种。

6.根据权利要求1～5中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

所述工序(d)中的加热温度为50～150℃。

7.根据权利要求1～6中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

所述工序(d)中的冷却温度低于50℃。

8.一种聚羟基烷酸酯凝聚体,其包含聚羟基烷酸酯和比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂。

9.根据权利要求8所述的聚羟基烷酸酯凝聚体,其中,

所述非水溶性有机溶剂为选自三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯及三丁酸甘油酯中的至少1种。

聚羟基烷酸酯的制造方法及其利用

技术领域

[0001] 本发明涉及聚羟基烷酸酯的制造方法及其利用。

背景技术

[0002] 已知聚羟基烷酸酯(以下有时称为“PHA”)具有生物降解性。

[0003] 微生物生成的PHA积蓄于微生物的菌体内,因此,为了以塑料的形式利用PHA,需要从微生物的菌体内对PHA进行分离/纯化的工序。在对PHA进行分离/纯化的工序中。可以在将含PHA微生物的菌体破碎或将PHA以外的生物来源成分溶解后,从得到的水性悬浮液中获取PHA。此时,例如,进行离心分离、过滤、干燥等分离操作。干燥操作使用喷雾干燥机、流动床干燥机、滚筒烘干机等,从操作简便的观点考虑,优选使用喷雾干燥机(专利文献1)。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:国际公开公报WO2018/070492号

发明内容

[0007] 发明要解决的课题

[0008] 但是,喷雾干燥仍有改进的余地。

[0009] 因此,作为代替喷雾干燥的技术,本发明的目的在于提供能够以简便的操作、且高收率地得到PHA的制造方法。

[0010] 解决课题的方法

[0011] 本发明人等为了解决上述课题而进行了深入研究,结果发现了以下的新见解而完成了本发明,所述新见解为通过在将特定pH的PHA水性悬浮液与特定的非水溶性有机溶剂混合后,利用离心分离而分离为非水溶性有机溶剂相和水相,由此能够简便且高收率地得到PHA。

[0012] 因此,本发明的一个方式涉及一种聚羟基烷酸酯的制造方法,该方法包括:(a)制备pH为5以下的PHA水性悬浮液的工序;(b)将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序;(c)通过对上述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,然后去除上述水相的工序;以及(d)对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的PHA的工序。

[0013] 另外,本发明的一个方式涉及一种聚羟基烷酸酯凝聚体,其包含聚羟基烷酸酯和比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂。

[0014] 发明的效果

[0015] 根据本发明的一个方式,可以通过简便操作高收率地得到PHA。

附图说明

[0016] 图1是示出了本发明的一个实施方式在离心分离后的分离的相的示意图。

[0017] 图2是示出了本发明的一个实施方式的PHA凝聚体的图。

[0018] 符号说明

[0019] 1 聚羟基烷酸酯相A(PHA相A)

[0020] 2 非水溶性有机溶剂主成分相

[0021] 3 聚羟基烷酸酯相B(PHB相B)

[0022] 4 水主成分相

具体实施方式

[0023] 以下,对本发明的一个实施方式详细地进行说明。需要说明的是,在本说明书中,在没有特别说明的情况下,表示数值范围的“A～B”是指“A以上、且B以下”。另外,本说明书中记载的全部文献以参考文献的形式援引至本说明书中。

[0024] 〔1.本发明内容〕

[0025] 本发明的一个实施方式的PHA的制造方法(以下称为“本制造方法”)包括:(a)制备pH为5以下的PHA水性悬浮液的工序;(b)将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序;(c)通过对上述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,然后去除上述水相的工序;以及(d)对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的PHA的工序。

[0026] 本发明人认为,在PHA的制造中进行喷雾干燥时存在以下的问题点。例如,在喷雾干燥操作中,由于需要使水性悬浮液中的全部水蒸发,因此需要很多的热能。另外,喷雾干燥操作所使用的喷雾干燥机容易变得巨大,在设备设置面积增大方面存在问题。因此,为了开发代替喷雾干燥的技术而进行了深入研究,主要成功地得到了以下见解。

[0027] • 通过使PHA水性悬浮液为特定的pH(例如,pH为5以下),在使PHA水性悬浮液与特定的非水溶性有机溶剂(例如,比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂)接触时,PHA对该非水溶性有机溶剂的亲和性增加。

[0028] • 在使PHA从PHA水性悬浮液向特定的非水溶性有机溶剂转移时,通过利用离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,能够简便地去除上层的相(水相),以高收率得到含有PHA的非水溶性有机溶剂相。

[0029] • 在对上述离心分离后的含有PHA的非水溶性有机溶剂相进行加热时,非水溶性有机溶剂相中包含的PHA热熔粘而凝聚。

[0030] • 将上述加热后的包含凝聚的PHA的溶液进行冷却时,得到凝胶状的PHA(以下有时也称为“凝胶化PHA”)。

[0031] • 对上述得到的凝胶化PHA进行清洗,然后进行干燥,由此得到PHA凝聚体。与通过喷雾干燥工序得到的PHA粉末相比,该PHA凝聚体更容易处理。

[0032] 基于上述见解完成了本发明。因此,由于根据本制造方法,能够以简便的操作高收率地得到PHA,因此对于PHA的制造是极其有利的。以下,对本制造方法的构成进行详细说明。

[0033] 〔2.PHA的制造方法〕

[0034] 本制造方法包括下述的工序(a)～(d)作为必需工序。

[0035] • 工序(a):制备pH为5以下的PHA水性悬浮液的工序

[0036] • 工序(b):将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序

[0037] • 工序(c):通过对上述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,然后去除上述水相的工序

[0038] • 工序(d):对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的PHA的工序。

[0039] (工序(a))

[0040] 在本制造方法中的工序(a)中,制备pH为5以下的PHA水性悬浮液。在该水性悬浮液中,PHA在水性介质中以分散的状态存在。以下,有时将至少包含PHA的水性悬浮液简称为“PHA水性悬浮液”。

[0041] ＜PHA＞

[0042] 在本说明书中,“PHA”是以羟基烷酸作为单体单元的聚合物的总称。作为构成PHA的羟基烷酸,没有特别限定,可以列举例如:乳酸、3-羟基丁酸、4-羟基丁酸、3-羟基丙酸、3-羟基戊酸、3-羟基己酸、3-羟基庚酸、3-羟基辛酸等。这些聚合物可以是均聚合物,也可以是包含2种以上单体单元的共聚物。

[0043] 更具体而言,作为PHA,可以列举例如:聚乳酸、聚(3-羟基丁酸酯)(P3HB)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基己酸酯)(P3HB3HH)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯)(P3HB3HV)、聚(3-羟基丁酸酯-co-4-羟基丁酸酯)(P3HB4HB)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基辛酸酯)(P3HB3HO)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基十八烷酸酯)(P3HB3HOD)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基癸酸酯)(P3HB3HD)、聚(3-羟基丁酸酯-co-3-羟基戊酸酯-co-3-羟基己酸酯)(P3HB3HV3HH)等。其中,从工业上容易生产的观点考虑,优选为P3HB、P3HB3HH、P3HB3HV、P3HB4HB。

[0044] 另外,通过改变重复单元的组成比,熔点、结晶度,作为结果,可以使杨氏模量、耐热性等物性发生变化,而且能够赋予聚丙烯与聚乙烯之间的物性,并且如上所述那样在工业上容易生产,从物性上有用的塑料的观点考虑,更优选为3-羟基丁酸与3-羟基己酸的共聚物、即P3HB3HH。

[0045] 在本发明的一个实施方式中,对于P3HB3HH的重复单元的组成比而言,从柔软性及强度的平衡的观点考虑,3-羟基丁酸酯单元/3-羟基己酸酯单元的组成比优选为80/20～99/1(mol/mol),更优选为85/15～97/3(mol/mol)。3-羟基丁酸酯单元/3-羟基己酸酯单元的组成比为99/1(mol/mol)以下时,可获得足够的柔软性,为80/20(mol/mol)以上时,可获得足够的硬度。

[0046] 在工序(a)中,作为起始原料而使用的PHA水性悬浮液没有特别限定,例如可以通过以下方法得到,所述方法包括:对具有在细胞内生成PHA的能力的微生物进行培养的培养工序、以及在该培养工序之后将PHA以外的物质分解和/或去除的纯化工序。

[0047] 本制造方法可以在工序(a)之前包括得到PHA水性悬浮液的工序(例如,包括上述的培养工序及纯化工序的工序)。该工序中使用的微生物只要是能够在细胞内生成PHA的微

生物即可，没有特别限定。例如，可以使用从天然分离得到的微生物、保藏于菌株的保藏机关(例如IFO、ATCC等)的微生物、或者可由它们制备的突变体、转化体等。更具体可以列举例如：贪铜菌(Cupriavidus)属、产碱菌(Alcaligenes)属、罗尔斯通氏菌(Ralstonia)属、假单胞菌(Pseudomonas)属、芽孢杆菌(Bacillus)属、固氮菌(Azotobacter)属、诺卡氏菌(Nocardia)属、气单胞菌(Aeromonas)属的菌等。其中，优选为属于气单胞菌属、产碱菌属、罗尔斯通氏菌属、或贪铜菌属的微生物。特别是更优选为解脂产碱菌(A.lipolytica)、产碱弧菌(A.latus)、豚鼠气单胞菌(A.caviae)、嗜水气单胞菌(A.hydrophila)、杀虫贪铜菌(C.necator)等的菌株，最优选为杀虫贪铜菌。

[0048] 另外，在微生物原本不具有PHA的生产能力的情况、或PHA的生产量低的情况下，也可以使用向该微生物导入作为目标的PHA的合成酶基因和/或其突变体而得到的转化体。作为这样的转化体的制备所使用的PHA的合成酶基因，没有特别限定，优选为豚鼠气单胞菌来源的PHA合成酶的基因。通过在适当的条件下培养这些微生物，可以得到在菌体内积蓄有PHA的微生物菌体。该微生物菌体的培养方法没有特别限定，例如，可以使用日本特开平05-93049号公报等中记载的方法。

[0049] 通过培养上述微生物而制备的含PHA微生物中大量包含作为杂质的菌体来源成分，因此，通常可以实施用于分解和/或去除PHA以外的杂质的纯化工序。在该纯化工序中，可以应用本领域技术人员能够想到的物理处理、化学处理、生物处理等，没有特别限定，例如，优选应用国际公开第2010/067543号中记载的纯化方法。

[0050] 通过上述的纯化工序，可以大致确定最终产品中残留的杂质量，因此，优选尽量减少这些杂质。当然，根据用途，可以在不损害最终产品的物性的情况下混入杂质，在医疗用途等需要高纯度的PHA的情况下，优选尽量减少杂质。作为此时的纯化度的指标，可以举出例如，PHA水性悬浮液中的蛋白质量。该蛋白质量优选为单位PHA重量30000ppm以下，更优选为15000ppm以下，进一步优选为10000ppm以下，最优选为7500ppm以下。纯化方式没有特别限定，例如，可以应用上述公知的方法。

[0051] 需要说明的是，构成本制造方法中的PHA水性悬浮液的溶剂(“溶剂”也称为“水性介质”)可以是水、或水与有机溶剂的混合溶剂。另外，在该混合溶剂中，作为与水具有相溶性的有机溶剂的浓度，只要为待使用的有机溶剂在水中的溶解度以下即可，没有特别限定。另外，作为与水具有相溶性的有机溶剂，可以列举例如：甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇、1-丁醇、2-丁醇、异丁醇、戊醇、己醇、庚醇等醇类；丙酮、甲乙酮等酮类；四氢呋喃、二噁烷等醚类；乙腈、丙腈等腈类；二甲基甲酰胺、乙酰胺等酰胺类；二甲基亚砜、吡啶、哌啶等，没有特别限定。作为上述与水具有相溶性的有机溶剂，其中，从易于去除的观点考虑，优选为甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇、1-丁醇、2-丁醇、异丁醇、丙酮、甲乙酮、四氢呋喃、二噁烷、乙腈、丙腈等。另外，作为上述与水具有相溶性的有机溶剂，从容易获得的观点考虑，更优选为甲醇、乙醇、1-丙醇、2-丙醇、丁醇、丙酮等。此外，作为上述与水具有相溶性的有机溶剂，特别优选为甲醇、乙醇、丙酮。需要说明的是，构成PHA水性悬浮液的水性介质在不损害本发明的本质的情况下，可以包含其它溶剂、菌体来源的成分、纯化时所产生的化合物等。

[0052] 在构成本制造方法的PHA水性悬浮液的水性介质中优选包含水。水性介质中的水的含量优选为50重量％以上，更优选为60重量％以上，进一步优选为70重量％以上，特别优选为80重量％以上。

[0053] ＜其它＞

[0054] 供于本制造方法的工序(a)之前的PHA水性悬浮液通常经过上述的纯化工序，从而具有超过7的pH值。因此，通过本制造方法的工序(a)将上述PHA水性悬浮液的pH调整至5以下。该调整方法没有特别限定，例如，可以举出添加酸的方法等。酸没有特别限定，可以是有机酸、无机酸中的任意酸，无论是否具有挥发性。更具体而言，作为酸，可以使用例如硫酸、盐酸、磷酸、乙酸等。

[0055] 对于上述调整工序中进行调整的PHA水性悬浮液的pH的上限，从PHA对工序(b)中的非水溶性有机溶剂的亲和性的观点考虑，为5以下，优选为4以下，更优选为3以下。另外，对于pH的下限，从容器的耐酸性的观点考虑，优选为1以上，更优选为1.2以上，进一步优选为1.4以上。通过将PHA水性悬浮液的pH设为5以下，在工序(b)中，PHA充分溶解于非水溶性有机溶剂中，结果是能够以高收率回收PHA。

[0056] 需要说明的是，在专利文献1中记载的进行喷雾干燥工序的技术中，也记载了将PHA水性悬浮液设为pH7以下，但这是为了减少加热熔融时PHA着色、抑制加热/干燥时PHA分子量降低。另一方面，在本制造方法中，为了促进PHA从PHA水性悬浮液向非水溶性有机溶剂相的转移，将pH设为5以下(如后述的比较例所示，在PHA水性悬浮液的pH超过5的情况下，PHA向非水溶性有机溶剂相的转移效率明显低)。因此，需要注意的是，两者降低PHA水性悬浮液的pH值的目的是明显不同的。

[0057] 通过本制造方法的工序(a)得到的PHA水性悬浮液中的PHA的浓度从干燥应用的方面考虑在经济上是有利的，为了提高生产性，优选为30重量％以上，更优选为40重量％以上，进一步优选为50重量％以上。另外，PHA的浓度的上限达到最密填充，可能无法确保足够的流动性，因此优选为65重量％以下，更优选为60重量％以下。调整PHA的浓度的方法没有特别限定，可以举出添加水性介质、去除水性介质的一部分(例如，通过在离心分离后去除上清等)等方法。PHA的浓度的调整可以在工序(a)的任意阶段实施，也可以在工序(a)之前的阶段实施。

[0058] (工序(b))

[0059] 在本制造方法中的工序(b)中，将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合。

[0060] 工序(b)中使用的非水溶性有机溶剂只要具有比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂即可，没有特别限定。通过使非水溶性有机溶剂的比重超过1.0g/mL，在后述的工序(c)中进行离心分离时，可以将水相分离为离心管的上层相，将非水溶性有机溶剂相分离为下层相(底部侧)。

[0061] 在本发明的一个实施方式中，作为比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂，可以列举例如：三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯、三丁酸甘油酯等。从与水具有比重差、离心分离的容易性的观点考虑，比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂优选为三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯，更优选为三乙酸甘油酯、三丙酸甘油酯。

[0062] 在本发明的一个实施方式中，比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂可以为选自三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯及三丁酸甘油酯中的至少1种。

[0063] 另外，在本发明的一个实施方式中，非水溶性有机溶剂的比重优选不超过PHA的比重。由此，可以使包含PHA的非水溶性有机溶剂相成为最下层，能够容易地进行回收。需要说

明的是,PHA的比重为1.2g/mL。

[0064] 在本发明的一个实施方式中,在20～40℃下,非水溶性有机溶剂在水中的溶解度例如为18g/100mL以下,优选为17g/100mL以下,更优选为16g/100mL以下,特别优选为15g/100mL以下。非水溶性有机溶剂在水中的溶解度为18g/100mL以下时,在后述的工序(c)中进行离心分离时,可以将非水溶性有机溶剂相与水相充分分离。另外,非水溶性有机溶剂在水中的溶解度的下限值没有特别限定,例如为0.1g/100mL以上。

[0065] 需要说明的是,上述的三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯及三丁酸甘油酯的比重及在水中的溶解度如下所述。

[0066] • 三乙酸甘油酯:1.16g/mL(比重)、6.1g/100mL(25℃下在水中的溶解度)

[0067] • 碳酸二甲酯:1.07g/mL(比重)、13.9g/100mL(25℃下在水中的溶解度)

[0068] • 三丙酸甘油酯:1.08g/mL(比重)、0.3g/100mL(37℃下在水中的溶解度)

[0069] • 丙二醇二乙酸酯:1.06g/mL(比重)、9.0g/100mL(25℃下在水中的溶解度)

[0070] • 三丁酸甘油酯:1.03g/mL(比重)、0.13g/100mL(37℃下在水中的溶解度)

[0071] (工序(c))

[0072] 在本制造方法的工序(c)中,通过离心分离将上述工序(b)中得到的混合液分离成非水溶性有机溶剂相和水相之后,去除上述水相。

[0073] 在工序(c)中,离心分离可以使用该技术领域中公知的任意方法进行。例如,可以使用后述的实施例中记载的Beckman Coulter公司制离心机Allegra™ X-22R Centrifuge进行。进行离心分离时的旋转速度、时间等可以由本领域技术人员适当设定。

[0074] 参照图1对本发明的一个实施方式中在工序(c)的离心分离后的分离状态进行说明。在工序(c)中的离心分离后,从下方(离心管的底部)起依次分离成PHA相A1、非水溶性有机溶剂主成分相2、PHA相B 3及水主成分相4。PHA相A1是主要包含PHA和非水溶性有机溶剂的混合液,PHA为最浓缩状态。PHA相A1中可以包含一部分PHA以外的成分。非水溶性有机溶剂主成分相2是主要包含非水溶性有机溶剂的溶液。非水溶性有机溶剂主成分相2中可以包含一部分PHA及PHA以外的成分。PHA相B 3是主要包含PHA和水的混合液。PHA相B3中可以包含未沉降于非水溶性有机溶剂相的PHA。PHA相B 3中可以包含PHA以外的成分。水主成分相4是主要包含水的相,可以包含一部分PHA及PHA以外的成分。

[0075] 需要说明的是,在本说明书中,有时将PHA相A及非水溶性有机溶剂主成分相合并简称为“非水溶性有机溶剂相”。另外,在本说明书中,有时将PHA相B及水主成分相合并简称为“水相”。

[0076] 通过使用本制造方法,可以以高收率得到PHA。这里,工序(c)中的PHA的收率可以将以下的式(1)所示的值作为指标表示:

[0077] PHA相A的体积/(PHA相A的体积+PHA相B的体积)×100 • • • (1)

[0078] 在本发明的一个实施方式中,上述式(1)所示的值例如为45%以上,优选为48%以上,更优选为50%以上。需要说明的是,上述的“PHA相A的体积”及“PHA相B的体积”通过实施例中记载的方法测定。

[0079] (工序(d))

[0080] 在本制造方法的工序(d)中,对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的PHA。

[0081] 在工序(d)中，对上述非水溶性有机溶剂相进行加热时，上述非水溶性有机溶剂相中包含的PHA发生热熔粘，可得到凝聚的PHA。

[0082] 在本发明的一个实施方式中，工序(d)中的加热温度只要是能够通过热熔粘而得到PHA凝聚体的温度即可，没有特别限定，例如为50～150℃，优选为60～130℃。

[0083] 工序(d)中的加热方法没有特别限定，可以举出例如使用油浴的方法。另外，加热时间也没有特别限定，可以由本领域技术人员适当设定。

[0084] 在工序(d)中，通过将包含上述加热而得到的凝聚的PHA的溶液冷却，PHA凝胶化，可得到凝胶状的PHA。凝胶状的PHA可以认为包含PHA和非水溶性有机溶剂。

[0085] 在本发明的一个实施方式中，工序(d)中的冷却温度只要是能够得到凝胶化PHA的温度即可，没有特别限定，例如为低于50℃，优选为40℃以下、30℃以下、25℃以下、20℃以下、15℃以下。

[0086] 工序(d)的冷却方法没有特别限定，可以举出例如使用水冷的方法。另外，冷却时间也没有特别限定，可以由本领域技术人员适当设定。

[0087] (其它)

[0088] 本制造方法可以在上述工序(d)之后进一步包括以下的工序(e)：

[0089] (e)利用有机溶剂对通过上述工序(d)得到的凝胶状的聚羟基烷酸酯进行清洗，然后干燥，得到聚羟基烷酸酯凝聚体的工序。

[0090] 通过工序(e)，可以得到PHA凝聚而成的PHA凝聚体。该PHA凝聚体是块状的PHA，与通过喷雾干燥工序得到的粉末状的PHA相比，粒径大，容易处理。

[0091] 在本发明的一个实施方式中，作为清洗所使用的有机溶剂，没有特别限定，可以列举例如：异丙醇、乙醇、叔丁醇、甲醇、丙酮、己烷等。另外，工序(e)中使用了有机溶剂的清洗可以使用该技术领域中公知的任意方法进行。

[0092] 在本发明的一个实施方式中，作为干燥方法，没有特别限定，可以使用该技术领域中公知的任意方法进行。作为干燥方法的一例，可以列举例如：热风干燥、真空干燥等。

[0093] 〔3.PHA凝聚体〕

[0094] 本发明的一个实施方式的PHA凝聚体(以下称为“本PHA凝聚体”)包含PHA和比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂。

[0095] 本PHA凝聚体可以通过本制造方法来制造，因此具有能够以简便的操作高收率地得到的优点。

[0096] 本PHA凝聚体包含比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂。本PHA凝聚体中的上述非水溶性有机溶剂的含量没有特别限定，相对于构成本PHA凝聚体的PHA 100重量份，例如为0.01～10重量份，优选为0.01～1重量份。通过使非水溶性有机溶剂的含量为上述范围，具有抑制易燃性的优点。

[0097] 另外，本PHA凝聚体的大小没有特别限定，例如，作为大小，优选最大直径为0.1cm～10cm，更优选为0.5cm～9.0cm，进一步优选为1.0cm～8.0cm。在本范围时，从操作性的观点考虑是优异的。

[0098] 另外，本PHA凝聚体只要能够发挥本发明的效果，就可以包含在本制造方法的过程中产生的、或未被去除的各种成分。

[0099] 需要说明的是，在本实施方式中，对于没有特别说明的部分，援引上述〔2.PHA的制

造方法〕中记载的内容。

[0100] 本PHA凝聚体可以用于纸、膜、片、管、板、棒、容器(例如,瓶容器等)、袋、构件等各种用途。

[0101] 本发明并不限定于上述的各实施方式,可以在权利要求所示的范围进行各种变更,将不同的实施方式中分别公开的技术方式适当组合而得到的实施方式也包含于本发明的技术范围。

[0102] 即,本发明的一个实施方式包含以下的发明。

[0103] <1>一种聚羟基烷酸酯的制造方法,该方法包括:

[0104] (a)制备pH为5以下的聚羟基烷酸酯水性悬浮液的工序;

[0105] (b)将上述工序(a)中得到的水性悬浮液与比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂进行混合的工序;

[0106] (c)通过对上述工序(b)中得到的混合液进行离心分离而将非水溶性有机溶剂相与水相分离,然后去除上述水相的工序;以及

[0107] (d)对上述工序(c)中得到的上述非水溶性有机溶剂相进行加热,然后冷却,得到凝胶状的聚羟基烷酸酯的工序。

[0108] <2>根据<1>所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,该方法进一步包括:

[0109] (e)利用有机溶剂对通过上述工序(d)得到的上述凝胶状的聚羟基烷酸酯进行清洗,然后干燥,得到聚羟基烷酸酯凝聚体的工序。

[0110] <3>根据<1>或<2>所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

[0111] 在上述工序(c)中,包括将上述混合液从下起依次分离为聚羟基烷酸酯相A、非水溶性有机溶剂主成分相、聚羟基烷酸酯相B及水主成分相,将上述聚羟基烷酸酯相B及上述水主成分相去除的工序。

[0112] <4>根据<1>～<3>中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

[0113] 在上述工序(c)中,以下的式(1)所示的值为45%以上。

[0114] 聚羟基烷酸酯相A的体积/(聚羟基烷酸酯相A的体积+聚羟基烷酸酯相B的体积)×100・・・(1)

[0115] <5>根据<1>～<4>中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

[0116] 上述非水溶性有机溶剂为选自三乙酸甘油酯、碳酸二甲酯、三丙酸甘油酯、丙二醇二乙酸酯及三丁酸甘油酯中的至少1种。

[0117] <6>根据<1>～<5>中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

[0118] 上述工序(d)中的加热温度为50～150℃。

[0119] <7>根据<1>～<6>中任一项所述的聚羟基烷酸酯的制造方法,其中,

[0120] 上述工序(d)中的冷却温度低于50℃。

[0121] <8>一种聚羟基烷酸酯凝聚体,其包含聚羟基烷酸酯和比重超过1.0g/mL的非水溶性有机溶剂。

[0122] 实施例

[0123] 以下,基于实施例对本发明更详细地进行说明,但本发明并不限定于这些实施例。

[0124] 〔实施例1〕

[0125] (菌体培养液的制备)

[0126] 将国际公开第2008/010296号的〔0049〕段中记载的富养罗尔斯通氏菌(Ralstonia eutropha)KNK-005株用该文献的〔0050〕～〔0053〕段中记载的方法进行培养,得到了包含含有PHA的菌体的菌体培养液。需要说明的是,富养罗尔斯通氏菌现在被分类为杀虫贪铜菌。

[0127] (灭菌处理)

[0128] 将上述得到的菌体培养液在内温60～80℃下加热/搅拌处理20分钟,进行了灭菌处理。

[0129] (高压破碎处理)

[0130] 向上述得到的完成灭菌的菌体培养液中添加0.2重量%的十二烷基硫酸钠。进一步添加了氢氧化钠水溶液,使得pH达到11.0后,在50℃下保温1小时。然后,使用高压破碎机(高压均化器型号PA2K型、Niro Soavi公司制)以450～550kgf/cm^2的压力进行了高压破碎。

[0131] (纯化处理)

[0132] 向上述得到的高压破碎后的破碎液添加了等量的蒸馏水。将其离心分离后,去除上清,进行了2倍浓缩。向该浓缩的PHA的水性悬浮液添加与去除的上清等量的氢氧化钠水溶液(pH11.0),进行离心分离。接着,去除上清后再次添加水而使其悬浮,添加0.2重量%的十二烷基硫酸钠和PHA的1/100重量的蛋白酶(Esperase、Novozymes公司制),在pH 10.0下保持于50℃的状态下搅拌2小时。然后,通过离心分离去除上清,进行了4倍浓缩。进一步添加水,由此调整为PHA浓度达到52重量%。

[0133] (离心分离)

[0134] 向上述得到的PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为4.0。接着,向50mL离心管中添加三乙酸甘油酯(比重:1.16g/mL)35.0g、上述PHA水性悬浮液12.5g,进行混合。使用Beckman Coulter公司制离心机Allegra™ X-22RCentrifuge以旋转速度4000rpm对得到的混合液进行了30分钟的离心分离。在离心分离后,上述混合液从离心管的底部起依次分离为PHA相A、非水溶性有机溶剂主成分相、PHA相B及水主成分相。

[0135] 使用离心管的体积刻度测定了离心分离后的各相的体积。然后,基于测得的PHA相A的体积及PHA相B的体积,使用下式(1)求出了PHA回收率。将上述的各相的体积及PHA回收率示于表1。

[0136] PHA回收率＝PHA相A的体积/(PHA相A的体积+PHA相B的体积)×100・・・(1)

[0137] 从上述离心分离后的混合液中去除PHA相B及水主成分相,得到了含有PHA的非水溶性有机溶剂悬浮液(在实施例中为“含有PHA的三乙酸甘油酯悬浮液”)。接着,将上述含有PHA的三乙酸甘油酯悬浮液在130℃下加热5分钟后,在室温下冷却,使PHA凝胶化。将上述凝胶化PHA过滤并回收后,用异丙醇清洗,进一步使其干燥,得到了PHA凝聚体。将PHA凝聚体示于图2。

[0138] 本PHA凝聚体的大小(最大直径)为6.4cm。

[0139] 〔实施例2〕

[0140] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为4.7,除此以外,通过与实施例1相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为6.1cm。

[0141] 〔实施例3〕

[0142] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为2.7,除此以外,通过与实施例1相同

的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为5.8cm。

[0143] 〔实施例4〕

[0144] 将三乙酸甘油酯变更为25.0g,将上述PHA水性悬浮液变更为22.5g,除此以外,通过与实施例3相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为6.4cm。

[0145] 〔实施例5〕

[0146] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为1.5,除此以外,通过与实施例1相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为7.6cm。

[0147] 〔实施例6〕

[0148] 将三乙酸甘油酯变更为25.0g,将上述PHA水性悬浮液变更为22.5g,除此以外,通过与实施例5相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为6.3cm。

[0149] 〔实施例7〕

[0150] 将三乙酸甘油酯变更为17.5g,将上述PHA水性悬浮液变更为30.4g,除此以外,通过与实施例5相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为6.1cm。

[0151] 〔比较例1〕

[0152] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为8.3,除此以外,通过与实施例1相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为3.1cm。

[0153] 〔比较例2〕

[0154] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为7.0,除此以外,通过与实施例1相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为4.6cm。

[0155] 〔比较例3〕

[0156] 向PHA水性悬浮液添加硫酸,调整至pH稳定为5.9,除此以外,通过与实施例1相同的方法对包含PHA的混合液进行了离心分离。将PHA回收率示于表1。本PHA凝聚体的大小(最大直径)为5.3cm。

[0157]

[表1]

	离心分离前			离心分离后			
	PHA水性悬浮液 pH	PHA水性悬浮液 [g]	三乙酸甘油酯 [g]	PHA相A [mL]	非水溶性有机溶剂主成分相[mL]	PHA相B [mL]	水主成分相 [mL]	PHA回收率 [%]
实施例1	4.0	12.5	35.0	11.8	21.9	2.6	1.9	82
实施例2	4.7	12.5	35.0	9.5	23.0	7.5	0.0	56
实施例3	2.7	12.5	35.0	11.1	24.4	1.1	5.3	91
实施例4	2.7	22.5	25.0	22.5	8.6	2.2	8.7	91
实施例5	1.5	12.5	35.0	11.1	24.4	2.8	2.8	80
实施例6	1.5	22.5	25.0	21.7	8.9	2.5	8.6	90
实施例7	1.5	30.4	17.5	28.3	1.1	0.3	12.8	99
比较例1	8.3	12.5	35.0	4.0	23.5	13.5	0.0	23
比较例2	7.0	12.5	35.0	5.0	21.7	15.0	0.0	25
比较例3	5.9	12.5	35.0	8.5	20.4	12.8	0.0	40

[0158] 〔结果〕

[0159] 表1表明，与比较例1～3相比，实施例1～7的PHA回收率高。即，可知在实施例1～7

中，与pH超过5的比较例1～3相比，PHA回收率高。

[0160] 另外，根据图2可知，使用实施例的方法(即，本发明的方法)能够从PHA水性悬浮液中回收PHA凝聚体。

[0161] 工业实用性

[0162] 本制造方法能够以简便的操作高收率地制造PHA，因此可以有利地用于PHA的制造。另外，通过本制造方法得到的PHA凝聚体等可以适宜地用于农业、渔业、林业、园艺、医学、卫生用品、衣料、非衣料、包装、汽车、建材、其它领域。

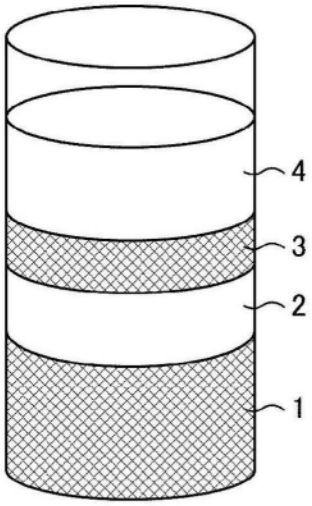


图1

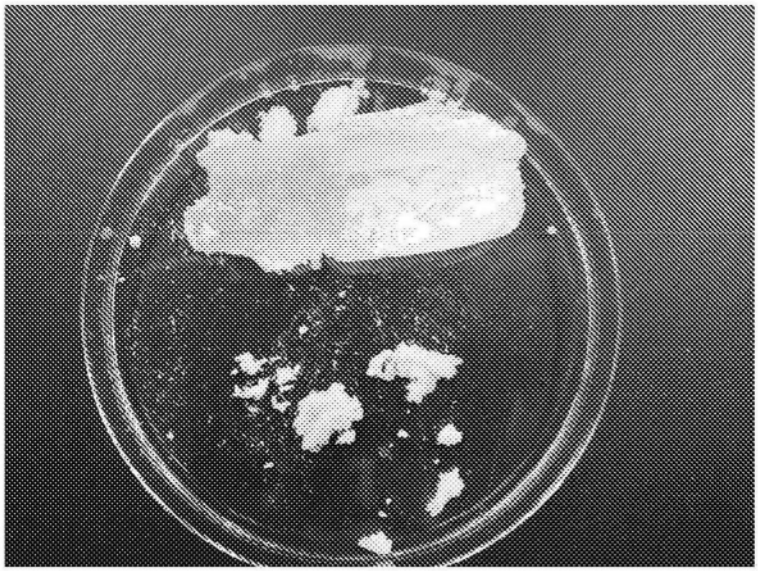


图2