

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 015

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C12P 7/62 (2006.01)
C08G 63/06 (2006.01)
C08G 63/90 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2014-384**
(22) Přihlášeno: **03.06.2014**
(40) Zveřejněno: **16.12.2015**
(Věstník č. 50/2015)
(47) Uděleno: **04.10.2017**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **15.11.2017**
(Věstník č. 46/2017)

(56) Relevantní dokumenty:

US 5213976; EP 0036699; US 2006105440; WO 98/46783; WO 2013/016558.

(73) Majitel patentu:
NAFIGATE Corporation, a.s., Praha 9, Prosek, CZ
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Praha 6, CZ

(72) Původce:
Ing. Jiří Trejbal, Ph.D., Kralupy nad Vltavou, CZ
Ing. Martin Zapletal, Ph.D., Vsetín, CZ

(74) Zástupce:
Ing. Dobroslav Musil, patentová kancelář,
Zábrdovická 11, 615 00 Brno

fáze se extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku, které se k ní přidá v hmotnostním poměru 1:5 až 1:20, extrahují PHA, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující PHA, který se zavede/zavádí do cirkulační smyčky vyplněné vodou o teplotě 20 až 120 °C, případně směsí vody a až 20 % hmotn. extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku použitého pro extrakci PHA, čímž se z tohoto extraktu odstraní extrakční činidlo a vysráží PHA.

(54) Název vynálezu:

Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty

(57) Anotace:

Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů (PHA) z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími PHA a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující PHA, u kterého se z biomasy, která se, pokud je fermentovaná, nejprve zahustí izolací z fermentačního média na obsah sušiny alespoň 20 %, PHA extrahují do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku separuje extrakt, ze kterého se odstraní extrakční činidlo a vysráží PHA. Před extrakcí PHA se z biomasy extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci, které se k biomase přidá v hmotnostním poměru 1:0,5 až 1:5, extrahují složky biomasy jiné než PHA, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující tyto složky biomasy, z pevné fáze se destilací z vodného roztoku nebo stripováním vodní párou nebo sušením odstraní zbytky extrakčního činidla. Z takto předčištěné pevné

CZ 307015 B6

Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty

5

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu izolace polyhydroxyalkanoátů (PHA) z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty, u kterého se polyhydroxyalkanoáty extrahují z biomasy do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku separuje extrakt, ze kterého se polyhydroxyalkanoáty následně vysráží.

15

Dosavadní stav techniky

Polyhydroxyalkanoáty (PHA) se stále více prosazují jako alternativa konvenčních plastů, neboť mají výhodné mechanické vlastnosti, na rozdíl od jiných biopolymerů se chovají jako termoplasty, a je možné získat je z obnovitelných zdrojů, např. z biomasy – a to buď z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími při svém životním cyklu PHA jako svoji potravinu a energetickou zásobu, nebo z biomasy vytvořené nebo obsahující alespoň jednu plodinu produkující PHA, jako např. geneticky modifikovanou kukuřici. V prvním případě lze navíc volbou kmene mikroorganismů a/nebo zdroje uhlíku pro kultivaci (sacharidy/tuky) dosáhnout různého složení PHA, a navozením vhodných podmínek kultivace použitých mikroorganismů až 90 % obsahu PHA v jejich buňkách. Při použití bakterií kmene *Cupriavidus necator* H16 lze navíc jako zdroj uhlíku během fermentace spotřebovávat odpadní jedlé oleje z tepelné přípravy pokrmů, jejichž výhodou je jejich nízká cena a dobrá dostupnost na trhu. Nejznámějším zástupcem PHA je polyhydroxybutyrát (PHB) a jeho kopolymery s 3-hydroxyvalerátem a 3-hydroxyhexanolátem.

V současné době je známá řada způsobů izolace PHA z biomasy obsahující PHA, při nichž se používají různá rozpouštědla, jako například částečně halogenované uhlovodíky (viz např. EP 0015123 a US 4324907), karbonáty (viz např. US 4101533 a US 4140741), vyšší alkoholy a jejich estery (viz např. US 2007/0161096, WO 97/07229 a WO 2009/114464) a další látky, jako např. estery dikarboxylových a trikarboxylových kyselin a gama-butyrolakton (viz např. US 4968611), atd., která extrahují PHA z biomasy, a ze kterých se PHA následně vhodným způsobem separují. Nevýhodou těchto postupů je, že vzhledem k charakteru používaných rozpouštědel probíhají za vyšší teploty, která současně způsobuje tepelnou degradaci izolovaných PHA.

Z tohoto hlediska je nejvýhodnější použití extrakčních činidel na bázi chlorovaných uhlovodíků, neboť to umožňuje separaci PHA z nich za nižších teplot (obecně cca do 100 až 120 °C), při kterých ještě k tepelné degradaci PHA nedochází (viz např. US 4310684, EP 0014490, US 4562245, US 4705604 a US 5213976). Při testování těchto způsobů se však zjistilo, že extrakční činidla na bázi chlorovaných uhlovodíků z biomasy kromě PHA extrahují i jiné její složky, které se při následné separaci vysrážením do vody vysráží společně s PHA a podstatným způsobem sníží jejich finální čistotu. Ta díky tomu dosahuje maximálně cca kolem 90 % (viz např. Srovnávací příklad 1 níže). U způsobu dle US 5213976 pak navíc PHA díky nedostatečné turbulenci vody při jejich vysrážení vytváří velké částice, které je nutno dodatečně dezintegrovat.

Alternativou, při které se znečištění PHA nežádoucími složkami biomasy eliminuje, je vysrážení PHA do organického rozpouštědla. To je však vykoupeno vysokými náklady na recyklaci tohoto organického rozpouštědla (které se používá ve velkém přebytku), a také tím, že se PHA vysráží ve formě gelu s vysokou vlhkostí, takže je nutno je dále vysušovat.

Cílem vynálezu je navrhnout způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu

plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty, který by vedl k jejich izolaci s vysokou čistotou, a případně i ve formě co nejmenších částic.

5 Podstata vynálezu

Cíle vynálezu se dosáhne způsobem izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty podle vynálezu, u kterého se z biomasy, která se, pokud je fermentovaná, nejprve zahustí izolací z fermentačního média na obsah sušiny alespoň 20%, polyhydroxyalkanoáty extrahují do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku separuje extrakt, ze kterého se odstraní extrakční činidlo a vysráží polyhydroxyalkanoáty, jehož podstata spočívá v tom, že před extrakcí polyhydroxyalkanoátů se z biomasy extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci, které se k biomase přidá v hmotnostním poměru 1:0,5 až 1:5, s výhodou 1:2 až 1:3, extrahují složky biomasy jiné než polyhydroxyalkanoáty, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, s výhodou 20 až 40 minut, při teplotě 20 až 120 °C. Poté se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující tyto složky biomasy a z pevné fáze se destilací z vodného roztoku nebo stripováním vodní parou nebo sušením pevné fáze odstraní zbytky extrakčního činidla. Z takto předčištěné pevné fáze se extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku, které se k ní přidá v hmotnostním poměru 1:5 až 1:20, extrahují polyhydroxyalkanoáty, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, s výhodou 20 až 40 minut, při teplotě 20 až 120 °C, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující polyhydroxyalkanoáty. Tento extrakt se pak zavede nebo průběžně zavádí do cirkulační smyčky vyplněné vodou o teplotě 20 až 120 °C, případně směsí vody a až 20 % hmotnostních extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku použitého pro extrakci polyhydroxyalkanoátů, čímž se z tohoto extraktu odstraní extrakční činidlo a vysráží polyhydroxyalkanoáty. Čistota polyhydroxyalkanoátů izolovaných tímto způsobem přitom přesahuje 99 %, s výtěžkem 97 a více %. Velikost částic polyhydroxyalkanoátů pak dosahuje cca 1 mm.

Extrakce extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku může pro dosažení vyšší čistoty PHA probíhat ve více stupních, z nichž každý probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, a před každým následujícím stupněm se extrakt z předchozího stupně koncentruje dekantací a/nebo filtrací a/nebo odstředěním.

Vhodným extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholů je přitom ethanol, propanol, isopropylalkohol, butanol, isobutylalkohol, terc-butylalkohol, nebo libovolná směs alespoň dvou z nich.

Extrakce extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku může pro dosažení vyšší výtěžnosti polyhydroxyalkanoátů probíhat ve více stupních, z nichž každý probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, a před každým následujícím stupněm se extrakt z předchozího stupně koncentruje dekantací a/nebo filtrací a/nebo odstředěním.

Vhodným extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku je dichlormethan, chloroform, tetrachlormetan, dichlorethan, nebo libovolná směs alespoň dvou z nich.

Z hlediska úspory použitého extrakčního činidla (jak činidla na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku, tak i činidla na bázi chlorovaných uhlovodíků) je výhodné, pokud se jednotlivé stupně extrakce provozují v navzájem protiproudém uspořádání, kdy se extrakt z každého následujícího stupně přivede do předchozího stupně, a "čisté" extrakční činidlo se přivádí pouze do posledního stupně.

Pokud se pro odstranění zbytků extrakčního činidla na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku z pevné fáze použije proces destilace, je výhodné, pokud se předtím pevná fáze naředí v hmotnost-

ním poměru 1:2 až 1:10 vodou, a destilace pak probíhá v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar (10 kPa až 600 kPa).

Pokud se pro odstranění zbytků extrakčního činidla na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku z pevné fáze použije stripování vodní parou, provádí se toto stripování v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar (10 kPa až 600 kPa).

Pro intenzivnější vysrážení PHA je pak výhodné, pokud se extrakt obsahující PHA před zavedením do cirkulační smyčky zkoncentruje odpařením extrakčního činidla na koncentraci polyhydroxyalkanoátů 5 až 10 %. Kondenzační teplo získané při tomto procesu je pak možné využít pro odpaření extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku v cirkulační smyčce.

Příklady uskutečnění vynálezu

U způsobu izolace polyhydroxyalkanoátů (PHA) z biomasy fermentované mikroorganismy, které při svém životním cyklu produkují PHA jako svoji potravinu a energetickou zásobu (např. bakteriemi kmene *Cupriavidus necator* H16, atd.) a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující PHA (např. geneticky modifikovanou kukuřici, apod.) podle vynálezu, se před extrakcí PHA z biomasy odstraní její složky, které by mohly PHA znečistit, a teprve poté se z takto předčištěné biomasy do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku extrahují PHA. Extrakt obsahující PHA se poté zavede, případně kontinuálně zavádí do cirkulační smyčky, kde se z něj odstraní extrakční činidlo a vysráží PHA.

Pro odstranění nežádoucích složek biomasy se použije extrakční činidlo na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci, jako např. ethanol, propanol, isopropylalkohol, butanol, isobutylalkohol, terc-butylalkohol, nebo libovolná směs alespoň dvou z nich, která se k biomase přidá v hmotnostním poměru 1:0,5 až 1:5, s výhodou pak v hmotnostním poměru 1:2 až 1:3. Extrakce přitom probíhá po dobu 5 až 90 minut, s výhodou 20 až 40 minut, při teplotě 20 až 120 °C, s výhodou při teplotě o 5 °C nižší než je teplota varu daného extrakčního roztoku – čím vyšší je teplota, tím vyšší je i podíl extrahovaných složek biomasy a díky tomu i finální čistota PHA. Během této extrakce se do extrakčního činidla na bázi alkylalkoholu z biomasy extrahují nežádoucí složky, které by se jinak extrahovaly během extrakce PHA, aniž se přitom současně extrahovalo PHA a snižovala se jeho koncentrace v biomase. Po ukončení extrakce se z vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující nežádoucí složky biomasy, a z pevné fáze se odstraní zbytky použitého extrakčního činidla, které tvoří podstatnou část její vlhkosti. To je možné provést např. naředěním pevné fáze vodou a následným vyvařením extrakčního činidla v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar – 10 kPa až 600 kPa (tj. destilací z vodného roztoku), přičemž naředění pevné fáze musí být dostatečné, tj. v rozmezí cca 1:2 až 1:10 hmotnostně, aby nedošlo k zablokování rektifikační kolony. Během experimentů se přitom překvapivě zjistilo, že tento postup má současně pozitivní vliv na rychlost následné extrakce PHA do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku.

Jinými použitelnými metodami odstranění zbytků extrakčního činidla z pevné fáze je také stripováním vodní parou v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar (10 kPa až 600 kPa) nebo její usušení.

Extrakt oddělený z extrakčního roztoku představuje odpad způsobu izolace PHA podle vynálezu. Přitom je výhodné, pokud se z něj např. destilací z vodného roztoku, recykluje v něm obsažené extrakční činidlo. Přitom dochází s poklesem koncentrace tohoto extrakčního činidla k vysrážení extrahovaných složek biomasy. Ty pak lze separovat např. filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním.

Extrakce s využitím extrakčního činidla na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku může pro dosažení vyšší čistoty PHA probíhat ve více stupních (s výhodou např. dvou až pěti, případně i

více), z nichž každý probíhá po výše uvedenou dobu a za výše uvedené teploty, přičemž se před každým následujícím stupněm extrakční roztok z předchozího stupně koncentruje filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním. Podmínky jednotlivých stupňů extrakce přitom mohou být stejné, nebo alespoň jeden stupeň může od ostatních lišit teplotou a/nebo dobou extrakce. Jednotlivé

5 stupně se přitom s výhodou provozují v protiproudém uspořádání, tj. extrakt z každého následujícího stupně se přivede do předchozího stupně, přičemž "čisté" extrakční činidlo bez extrahovaných látek se přivádí pouze do posledního stupně. Tím se dosáhne stejného efektu, jako kdyby se jednotlivé stupně provozovaly v souproutém uspořádání, avšak při výrazné úspoře extrakčního činidla.

10 Pro extrakci PHA z takto připravené a předčištěné pevné fáze, resp. biomasy se použije extrakční činidlo na bázi chlorovaného uhlovodíku, které se k ní přidá v hmotnostním poměru 1:5 až 1:20. Vzhledem k tomu, že obsah PHA v extrakčním roztoku má podstatný vliv na viskozitu tohoto roztoku a na následné oddělování extraktu od pevné fáze, je výhodné volit poměr extrakčního

15 činidla k pevné fázi tak, aby výsledný extrakční roztok měl koncentraci PHA 1 až 10 %, s výhodou 3 až 5 %. Důležitým parametrem je přitom i obsah vody v pevné fázi, který má vliv na rychlost extrakce – při nízkém obsahu vody v biomase je obtížné extrahovat PHA do extrakčního činidla, naopak vyšší obsah vody v biomase extrakci PHA usnadňuje, takže není žádoucí vodu oddestilovávat. Výhodný obsah vody je přitom cca 40 až 70 %. Extrakce PHA pak probíhá po

20 dobu 5 až 90 minut, s výhodou 20 až 40 minut, při teplotě 20 až 120 °C s výhodou však o 5 °C nižší než je teplota varu daného extrakčního roztoku.

Z takto připraveného extrakčního roztoku se filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující PHA, který se zavede, případně kontinuálně zavádí do cirkulační smyčky vyplněné vodou o teplotě 20 až 120 °C, do které se z této extrakční fáze uvolní extrakční činidlo a vysráží PHA. Postupem času se tak z vody v cirkulační smyčce stává směs vody a extrakčního

25 činidla s až 20% koncentrací tohoto extrakčního činidla (kdy však ještě nebrání vysrážení PHA). Cirkulační smyčka je přitom tvořena potrubím ve tvaru písmene "U", jejíž vzestupná část je zavedena do boku odlučovače kapaliny, a její sestupná část je vyvedena ze dna tohoto odlučovače.

30 Cirkulace kapaliny se v této cirkulační smyčce dosáhne sifonovým efektem způsobeným částečným odparem extrakčního činidla při kontaktu extraktu s kapalinou ve smyčce. Nástřik se přitom zavádí do spodní části vzestupné části cirkulační smyčky. Tento postup umožňuje dosáhnout v cirkulační smyčce vysoké turbulence, přičemž rychlost kapaliny v její vzestupné části je 5 až 10 m/s, což způsobuje vysrážení PHA ve formě malých částic, které není třeba následně dezintegrovat.

35

Před zavedením extraktu obsahujícího PHA do cirkulační smyčky je přitom výhodné, pokud se tento extrakt zkoncentruje na koncentraci PHA 5 až 10 %. To se dosáhne např. odparem extrakčního činidla, s výhodou za zvýšeného tlaku (1 až 6 bar, s výhodou 2 až 4 bar – 100 kPa až

40 600 kPa, s výhodou 200 kPa až 400 kPa), přičemž kondenzační teplo par je možné dále využít (viz níže).

Tuhá fáze oddělená z extrakčního roztoku představuje odpad způsobu izolace PHA podle vynálezu. Přitom je výhodné, pokud se z ní např. jejím naředěním vodou a následným vyvařením (tj. destilací) odstraní zbytky extrakčního činidla. Tento postup přitom lze s výhodou realizovat v rektifikační koloně, přičemž naředění tuhé fáze vodou musí být dostatečné, tj. v rozmezí 1:2 až 1:10, aby nedocházelo k zablkování této kolony. Tímto způsobem lze snížit obsah chlorovaných látek v této tuhé fázi až pod 1 ppm. Vyvařené tuhé zbytky pak lze separovat filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním.

50

Extrakce s využitím extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku může pro dosažení vyšší výtěžnosti PHA probíhat ve více stupních (s výhodou např. dvou až pěti, případně i více), z nichž každý probíhá po výše uvedenou dobu a za výše uvedené teploty, přičemž před každým následujícím stupněm se z extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním od

55 dělí tuhá fáze. Podmínky jednotlivých stupňů extrakce přitom mohou být stejné, nebo alespoň

jeden stupeň může od ostatních lišit teplotou a/nebo dobou extrakce. Jednotlivé stupně se přitom s výhodou provozují v protiproudém uspořádání, tj. extrakt z každého následujícího stupně se přivede do předchozího stupně, přičemž "čisté" extrakční činidlo bez extrahovaných látek se přivádí pouze do posledního stupně. Tím se dosáhne stejného efektu, jako kdyby se jednotlivé stupně provozovaly v souproutém uspořádání, avšak při výrazné úspoře extrakčního činidla. Extrakty oddělené v jednotlivých stupních extrakce se následně smíchají a zavedou do cirkulační smyčky.

Výhodou tohoto postupu je, že umožňuje využít na odpaření extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku z extraktu kondenzační teplo par tohoto extrakčního činidla získané při zkoncentrování extraktu obsahující PHA, které se dodává do cirkulační smyčky přes tepelný výměník zařazený v její vzestupné části. To výrazně snižuje celkové provozní náklady izolace PHA. Jinou variantou zdroje tepla je pak např. parní kondenzát.

Z cirkulační smyčky se PHA odvádí ve formě suspenze, s výhodou přes filtrační odstředivku, na které je možné dosáhnout nízké vlhkosti produktu – v rozmezí cca 10 až 20 %. Poté se tento produkt případně dále suší.

Před zahájením způsobu izolace PHA podle vynálezu je výhodné, zkoncentrovat biomasu, resp. fermentační roztok vytvořený její fermentací na koncentrát s obsahem sušiny 20 až 80 % s výhodou 40 až 60 %. Vhodným způsobem zkoncentrování je přitom např. dekantace, neboť ta současně umožňuje z biomasy odstranit případně i nespotřebovaný odpadní jedlý olej, který při fermentaci biomasy sloužil jako zdroj uhlíku. Kromě toho však lze použít i filtraci a/nebo odstředění.

Níže jsou popsány 2 konkrétní příklady způsobu izolace PHA z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími PHA způsobem podle vynálezu. Přitom je však z podstaty věci jasné, že při použití jiných látek (zejména extrakčních činidel), resp. parametrů jednotlivých extrakcí, resp. stupňů extrakcí, případně jiných technik použitých v jednotlivých krocích, uvedených výše, a v patentových nárocích, bude výsledek izolace PHA stejný, nebo v podstatě stejný.

Příklad 1

K 20 kg biomasy získané odstředěním fermentačního roztoku s koncentrací sušiny 45 %, s obsahem PHA v sušině 75 % se přidalo 40 kg 80% vodného roztoku isopropylalkoholu (hmotnostní poměr 1:1,6), čímž se vytvořil extrakční roztok. Extrakce složek biomasy jiných než PHA pak probíhala za stálého míchání po dobu 30 minut při teplotě 75 °C. Poté se tento extrakční roztok zkoncentroval odstředěním a k 19,1 kg izolované pevné fáze se přidalo dalších 40 kg 80% vodného roztoku izopropylalkoholu (hmotnostní poměr 1:1,68). Druhý stupeň extrakce pak probíhal za stejných podmínek jako první, a po jeho ukončení se extrakční roztok zkoncentroval odstředěním.

K 18 kg získané pevné fáze se následně přidalo 150 kg vody (hmotnostní poměr 1:8,3) a vytvořená směs se důkladně rozmíchala. Poté se tato rozmíchaná směs nastříkovala do hlavy rektifikační kolony s orientovanou výplní s 10 teoretickými patry, do které se současně ze spodu zaváděla pára. Odstředěním pátového proudu z rektifikační kolony se získalo 16 kg pevné fáze s obsahem sušiny 49,5 % a obsahem PHA v sušině 85,1 %. Obsah isopropylalkoholu v ní přitom byl pod 1 ppm.

K 10 kg takto získané pevné fáze se následně přidalo 120 kg chloroformu (hmotnostní poměr 1:12), čímž se vytvořil extrakční roztok. Extrakce PHA do chloroformu pak probíhala za stálého míchání po dobu 30 minut při teplotě 50 °C. Po jejím ukončení se extrakční roztok odstředil a k 8,1 kg pevné fáze se přidalo dalších 120 kg chloroformu (hmotnostní poměr 1:14,8). Druhý stupeň extrakce PHA přitom probíhal za stejných podmínek jako první. Po jeho ukončení se odstředěním extrakčního roztoku získalo 6,8 kg pevné fáze, jejímž sušením při teplotě 80 °C se dále získalo 0,78 kg nerozpustných zbytků s obsahem 10,8 % PHA.

Extrakty obsahující PHA získané v jednotlivých stupních extrakce se spojily a odpařením chloroformu se zkoncentrovaly na koncentraci PHA 5 %. Takto získaný extrakt se poté kontinuálně zaváděl do spodní části cirkulační smyčky naplněné vodou předehřátou na teplotu 70 °C, která měla ve své vzestupné části zařazený vertikální výměník tepla temperovaný vodou o teplotě 85 °C. Rychlost kapaliny v sestupné části cirkulační smyčky byla 2,5 m/s, ve vzestupné části cirkulační smyčky 8 m/s. Přitom se v této kapalině z extraktu vysrážely částice PHA o průměrné velikosti cca 1 mm. Výsledná suspenze se následně filtrovala na nuči a odfiltrované částice PHA se sušily při teplotě 80 °C, čímž se získalo 4,15 kg PHA s čistotou 99,2 % (což představuje výtěžek 98 %).

Příklad 2

K 16 kg biomasy získané odstředěním fermentačního roztoku s koncentrací sušiny 47 % a s obsahem PHA v sušině 76 % se přidalo 25 kg 90% vodného roztoku ethanolu (hmotnostní poměr 1:1,4), čímž se vytvořil extrakční roztok. Extrakce složek biomasy jiných než PHA pak probíhala za stálého míchání po dobu 30 minut při teplotě 65 °C. Poté se tento extrakční roztok zkoncentroval odstředěním a k 15,3 kg izolované pevné fáze se přidalo dalších 25 kg 90% vodného roztoku ethanolu (hmotnostní poměr 1:1,47). Druhý stupeň extrakce pak probíhal za stejných podmínek jako první, a po jeho ukončení se extrakční roztok zkoncentroval odstředěním.

K 15 kg získané pevné fáze se následně přidalo 150 kg vody (hmotnostní poměr 1:10) a vytvořená směs se důkladně rozmíchala. Poté se tato rozmíchaná směs nastříkovala do hlavy rektifikační kolony s orientovanou výplní s 10 teoretickými patry, do které se současně ze spodu zaváděla pára. Odstředěním patového proudu z rektifikační kolony se získalo 13 kg pevné fáze s obsahem sušiny 49,5 % a obsahem PHA v sušině 87,2 %. Obsah ethanolu v ní přitom byl pod 1 ppm.

K 5 kg takto získané pevné fáze se následně přidalo 50 kg tetrachlormethanu (hmotnostní poměr 1:10), čímž se vytvořil extrakční roztok. Extrakce PHA do tetrachlormethanu pak probíhala za stálého míchání po dobu 30 minut při teplotě 60 °C. Po jejím ukončení se extrakční roztok odstředil a ke 4 kg pevné fáze se přidalo dalších 50 kg tetrachlormethanu (hmotnostní poměr 1:12,5). Druhý stupeň extrakce PHA přitom probíhal za stejných podmínek jako první. Po jeho ukončení se odstředěním extrakčního roztoku získalo 3,1 kg pevné fáze, jejímž sušením při teplotě 80 °C se dále získalo 0,33 kg nerozpustných zbytků s obsahem 19,9 % PHA.

Extrakty obsahující PHA získané v jednotlivých stupních extrakce se spojily a odpařením tetrachlormethanu se zkoncentrovaly na koncentraci PHA 5 %. Takto získaný extrakt se poté kontinuálně zaváděl do spodní části cirkulační smyčky naplněné vodou předehřátou na teplotu 70 °C, která měla ve své vzestupné části zařazený vertikální výměník tepla temperovaný vodou o teplotě 85 °C. Rychlost kapaliny v sestupné části cirkulační smyčky byla 2,5 m/s, ve vzestupné části cirkulační smyčky 8 m/s. Přitom se v této kapalině z extraktu vysrážely částice PHA o průměrné velikosti cca 1 mm. Výsledná suspenze se následně filtrovala na nuči a odfiltrované částice PHA se sušily při teplotě 80 °C, čímž se získalo 2,14 kg PHA s čistotou 99,4 % (což představuje výtěžek 97 %).

Srovnávací příklad 1 – způsob dle US 5213976

Při testování a ověřování způsobu izolace PHA z biomasy podle US patentu 5213976 se zjistilo, že extrakční činidla na bázi chlorovaných uhlovodíků mají schopnost extrahovat z biomasy kromě PHA, i další její složky, které se při následném vysrážení do vody vysráží společně s PHA, čímž PHA znečišťují. Čistota PHA pak v tomto případě dosahuje maximálně cca 92 %.

K 3,5 kg biomasy získané odstředěním fermentačního roztoku s koncentrací sušiny 47 % a s obsahem PHA v sušině 76 % se přidalo 40 kg chloroformu (hmotnostní poměr 1:11,4), čímž se vy-

tvořil extrakční roztok. Extrakce PHA do chloroformu pak probíhala za stálého míchání po dobu 30 minut při teplotě 50 °C. Poté se tento extrakční roztok zkoncentroval odstředěním, čímž se získalo 1,9 kg vodné fáze, 4,5 kg fáze nerozpustných zbytků a 37 kg extraktu obsahujícího PHA. Sušením fáze nerozpustných zbytků při teplotě 80 °C se získalo 0,42 kg nerozpustných zbytků s obsahem 32,1 % PHA.

Extrakt obsahující PHA se tryskou nastříkával do míchané nádoby o objemu 200 l s vodou vyhřátou na teplotu 80 °C, ve které se vysrážely PHA ve formě vloček o průměrné velikosti cca 7 mm. Výsledná suspenze se následně filtrovala na nuči a odfiltrované částice se sušily při teplotě 80 °C, čímž se získalo 1,15 kg PHA s čistotou 90,6 % (což představuje výtěžek 88 %).

Z výše uvedených příkladů je zřejmé, že způsob izolace PHA z biomasy podle vynálezu vede k podstatně vyšší čistotě PHA (cca o 8 až 9 %), s podstatně vyšším výtěžkem (cca o 10 %), a současně při něm PHA vytváří podstatně menší částice, které není třeba dále dezintegrovat (cca 7 x menší průměr).

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy fermentované mikroorganismy produkujícími polyhydroxyalkanoáty a/nebo z biomasy obsahující alespoň jednu plodinu produkující polyhydroxyalkanoáty, u kterého se z biomasy, která se, pokud je fermentovaná, nejprve zahustí izolací z fermentačního média na obsah sušiny alespoň 20 %, polyhydroxyalkanoáty extrahují do extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku separuje extrakt, ze kterého se odstraní extrakční činidlo a vysráží polyhydroxyalkanoáty, **vyznačující se tím**, že před extrakcí polyhydroxyalkanoátů se z biomasy extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci, které se k biomase přidá v hmotnostním poměru biomasa:extrakční činidlo 1:0,5 až 1:5, extrahují složky biomasy jiné než polyhydroxyalkanoáty, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující tyto složky biomasy a z pevné fáze se destilací z vodného roztoku nebo stripováním vodní parou nebo sušením pevné fáze odstraní zbytky extrakčního činidla, a z takto předčištěné pevné fáze se extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku, které se k ní přidá v hmotnostním poměru biomasa:extrakční činidlo 1:5 až 1:20, extrahují polyhydroxyalkanoáty, přičemž tato extrakce probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, načež se z takto vytvořeného extrakčního roztoku filtrací a/nebo dekantací a/nebo odstředěním oddělí extrakt obsahující polyhydroxyalkanoáty, který se zavede/zavádí do cirkulační smyčky vyplněné vodou o teplotě 20 až 120 °C, případně směsí vody a až 20 % hmotnostních extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku použitého pro extrakci polyhydroxyalkanoátů, čímž se z tohoto extraktu odstraní extrakční činidlo a vysráží polyhydroxyalkanoáty.

2. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že extrakce extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku probíhá v alespoň dvou stupních, z nichž každý probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, přičemž před každým následujícím stupněm se extrakt z předchozího stupně koncentruje dekantací a/nebo filtrací a/nebo odstředěním.

3. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že jednotlivé stupně extrakce se provozují v navzájem protiproudém uspořádání.

4. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakční činidlo na bázi alkylalkoholu s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci se k biomase přidá v hmotnostním poměru biomasa:extrakční činidlo 1:2 až 1:3.
- 5 5. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakce extrakčním činidlem na bázi alkylalkoholů s 2 až 4 atomy uhlíku v řetězci probíhá po dobu 20 až 40 minut.
- 10 6. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakční činidlo na bázi alkylalkoholu je tvořeno extrakčním činidlem ze skupiny ethanol, propanol, isopropylalkohol, butanol, isobutylalkohol, terc-butylalkohol, směsi alespoň dvou z nich.
- 15 7. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakce extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku probíhá v alespoň dvou stupních, z nichž každý probíhá po dobu 5 až 90 minut, při teplotě 20 až 120 °C, přičemž po každém stupni se z extrakčního roztoku dekantací a/nebo filtrací a/nebo odstředěním oddělí nerozpustné zbytky.
- 20 8. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle nároku 7, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že jednotlivé stupně extrakce se provozují v navzájem protiproudém uspořádání.
- 25 9. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakce extrakčním činidlem na bázi chlorovaného uhlovodíku probíhá po dobu 20 až 40 minut.
- 30 10. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakční činidlo na bázi chlorovaného uhlovodíku je tvořeno extrakčním činidlem ze skupiny dichlormethan, chloroform, tetrachlormetan, dichlorethan, směsi alespoň dvou z nich.
- 35 11. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že pevná fáze se před destilací extrakčního činidla naředí vodou v poměru biomasa:voda 1:2 až 1:10, a destilace z tohoto vodného roztoku se provádí v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar – 10 kPa až 600 kPa.
- 40 12. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z nároků 1 až 10, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že stripování vodní parou se provádí v rektifikační koloně při tlaku 0,1 až 6 bar – 10 kPa až 600 kPa.
- 45 13. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že extrakt obsahující polyhydroxyalkanoáty se před zavedením do cirkulační smyčky zkoncentruje odpařením extrakčního činidla na koncentraci polyhydroxyalkanoátů 5 až 10 %.
- 50 14. Způsob izolace polyhydroxyalkanoátů z biomasy podle nároku 13, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že pro odpaření extrakčního činidla na bázi chlorovaného uhlovodíku v cirkulační smyčce se použije kondenzační teplo par extrakčního činidla získané při zkoncentrování extraktu obsahujícího polyhydroxyalkanoáty.