

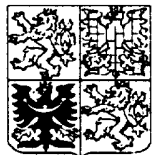
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

282 634

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2664-94**

(22) Přihlášeno: **28. 04. 93**

(30) Právo přednosti:

14. 05. 92 DE 92/4215860

14. 05. 92 DE 92/4215861

14. 05. 92 DE 92/4215862

(40) Zveřejněno: **15. 03. 95**

(Věstník č. 3/95)

(47) Uděleno: **24. 06. 97**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **13. 08. 97**

(Věstník č. 8/97)

(86) PCT číslo: **PCT/DE93/00372**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 93/23554**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:

C 12 P 7/62

C 08 G 63/90

(73) Majitel patentu:

BUNA AG, Schkopau, DE;

(72) Původce vynálezu:

Lehmann Olaf, Halle, DE;

Mayer Torsten, Halle, DE;

Rapthel Inno, Halle, DE;

Rauchstein Klaus-Dieter, Halle, DE;

Runkel Dietmar, Merseburg, DE;

Schaffer Jürgen, Halle, DE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA, a.s., Jívanská 1,
Praha 4, 14000;

(54) Název vynálezu:

**Způsob získávání polyhydroxyalkanoátů
bez barviva**

(57) Anotace:

Způsob získávání polyhydroxyalkanoátů bez barviva z bakteriové biohmoty, přednostně z bakteriové biohmoty kultury mikroorganismů *Methylobacterium rhodesianum* IMET 11401-DSM 8166, při němž se nejdříve provádí sušení vlhké biohmoty, poté se provádí extrakce sušené biohmoty kyselinou octovou, anhydridem kyseliny octové nebo butyrolaktonem a poté se provádí vysrážení polyhydroxyalkanoátu. Sušená bakteriová biohmota se vystaví po dobu 10 až 120 minut teplotě mezi 80°C a spodní hranicí rozsahu teploty tavení polyhydroxyalkanoátu a k extrakčnímu prostředku se přidává v % 1 až 10 objemových podílů anhydridu kyseliny octové nebo β - butyrolaktonu, vztaženo na celkový objem extrakčního prostředku.

CZ 282 634 B6

Způsob získávání polyhydroxyalkanoátu bez barvivaOblast techniky

5

Vynález se týká způsobu získávání polyhydroxyalkanoátů bez barviva z bakteriové biohmoty, přednostně z bakteriové biohmoty kultury mikroorganismů *Methylobacterium rhodesianum* IMET 11401-DSM 8166, při němž se nejdříve provádí sušení vlhké biohmoty, poté se provádí extrakce sušené biohmoty kyselinou octovou, anhydridem kyseliny octové nebo butyrolaktonem a poté se provádí vysrážení polyhydroxyalkanoátu.

10

Dosavadní stav techniky

15 Za definovaných fermentačních podmínek syntetizují různé mikroorganismy polymerní β -hydroxyalkanové kyseliny, například polyhydroxykyselinu máselnou PHB nebo kopolymerní polyhydroxykyselinu máselnou/polyhydroxykyselinu valérovou, jakož i jiné polyhydroxykarbonové kyseliny. Mimoto vznikají v buňkách stále lipidy a barviva, které při dalším zpracování získaného PHA působí rušivě jako znečištění. V patentových spisech EP 15 123, EP 58 480 a EP 124 309 jsou popsány známé způsoby, kterými se odstraňují lipidy a barviva nižšími alkoholy nebo acetonem. Nevýhodou těchto rozpouštěcích způsobů je to, že se jimi u některých karotenoidních barviv nedosahuje požadovaná čistota, tj. bílý polymer.

20

V patentovém spisu EP 355 307 je popsáno známé používání di- nebo trikarbonové ester-kyseliny, směsi dikarbonové ester-kyseliny nebo butyrolaktonu pro získání polyesterů nebo kopolyesterů, obsažených v 3 jednotkách hydroxykyseliny máselné extrakcí. Přitom se výslovně poukazuje na to, že pod označením butyrolakton se rozumí γ -butyrolakton.

25

Pro extrakci polyhydroxyalkanoátu z kmene mikroorganismů *Methylobacterium rhodesianum* s vysokým stupněm bělosti nelze však γ -butyrolakton použít.

30

V patentovém spisu DD 229 428 je popsán známý způsob s použitím anhydridu kyseliny octové jako extrakčního prostředku pro získání poly- β -hydroxykyseliny máselné ze sušené bakteriové biohmoty. U tohoto způsobu se získá bez použití přídatného srážedla poly- β -hydroxykyselina máselná s tuhou konzistencí. Při použití kmene mikroorganismů, který mimo toho produkuje karotenoidní barviva, nevykazuje vysrážená PHB nutnou kvalitu bělosti.

35

V patentovém spisu DD 276 304 je popsána jiná možnost, kterou se dosahuje přesrážení polymeru rozpouštědlem PHA. Přitom se musí jednak počítat s odbouráváním délky řetězce, a jednak počtem a/nebo růzností použitých rozpouštěcích a srážecích prostředků se ztěžuje zpracování PHA. Taktéž je nutné počítat s vyšším zbytkovým obsahem rozpouštěcích a srážecích prostředků v PHA.

40

45 Podstata vynálezu

Uvedené nedostatky do značné míry odstraňuje způsob získávání polyhydroxyalkanoátů bez barviva z bakteriové biohmoty, přednostně z bakteriové biohmoty kultury mikroorganismů *Methylobacterium rhodesianum* IMET 11401-DSM 8166, při němž se nejdříve provádí sušení vlhké biohmoty, poté se provádí extrakce sušené biohmoty kyselinou octovou, anhydridem kyseliny octové nebo butyrolaktonem a poté se provádí vysrážení polyhydroxyalkanoátu, jehož podstata spočívá v tom, že sušená bakteriová biohmota se vystaví po dobu 10 až 120 minut teplotě mezi 80 °C a spodní hranicí rozsahu teploty tavení polyhydroxyalkanoátu

50

a k extrakčnímu prostředku se přidává v % 1 až 10 objemových podílů anhydridu kyseliny octové nebo β -butyrolaktonu, vztaženo na celkový objem extrakčního prostředku.

- 5 Hlavní výhoda navrženého způsobu spočívá v tom, že se nepoužívají přídavné rozpouštěcí prostředky pro předextrakci sušené bakteriové biohmoty, čímž se podíl barviva odstraní před extrakcí PHA z bakteriové biohmoty. Další výhodou je to, že se odpadnutím přídavných stupňů přesrážení PHA získává polymer s dostatečně velkou délkou řetězce.

10 Příklady provedení vynálezu

- Při způsobu získávání PHA bez barviva z bakteriových biohmot se nejdříve provádí sušení vlhké bakteriové biohmoty, poté se provádí extrakce PHA kyselinou octovou a poté vysrážení v extrakčním prostředku rozpuštěných PHA. Sušená bakteriová biohmota je podrobena před
15 extrakcí přídavnému tepelnému zpracování. Za tím účelem je sušená bakteriová biohmota vystavena po dobu 10 až 120 minut teplotě, která leží mezi 80 °C a teplotou spodní hranice rozsahu teploty tavení polyhydroxyalkanoátů. Během tohoto působení teploty je barvivo, obsažené v bakteriové biohmotě, převedeno do takové formy, která již nepůsobí rušivě při dalším zpracování polymeru. V navazujícím extrakčním procesu se k extrakčnímu prostředku kyseliny octové přidávají 1 až 10 objemových podílů v % alifatického anhydridu karbonové kyseliny nebo
20 laktonu alifatické β -hydroxykarbonové kyseliny, vztaženo na celkový objem extrakčního prostředku.

- 25 Takové alifatické anhydridy karbonové kyseliny mohou být například anhydrid kyseliny octové, anhydrid kyseliny propionové nebo také anhydrid kyseliny máselné.

Jako laktony alifatické β -hydroxykarbonové kyseliny se mohou používat například β -kaprolakton, β -valerolakton, β -propiolakton nebo β -butyrolakton.

- 30 Extrakce se provádí známým způsobem. Na extrakci navazující stupeň vysrážení PHA z extrakčního prostředku, za použití známých postupů, poskytuje jasnější PHA než známé procesy.

- 35 K extrakčnímu prostředku přidané alifatické anhydridy karbonové kyseliny nebo laktony β -hydroxykarbonových kyselin a barviva zůstávají v extrakčním procesu.

- 40 Překvapivě vznikl po zpracování PHA směsí extrakčních prostředků z kyseliny octové a anhydridu kyseliny octové podle vynálezu produkt, jehož jasnost byla o 45 % nad nezpracovaným PHA, což znamená, že jeho podíl barviva se o tento podíl snížil. Extrakce, provedená známým způsobem čistou kyselinou octovou, poskytuje zlepšení jasnosti PHA pouze o 15 %. Naproti tomu se může jasnost PHA po extrakci čistým anhydridem kyseliny octové nebo čistým β -butyrolaktonem zlepšit asi o 33 %.

- 45 Ačkoliv se dosahuje extrakčními prostředky anhydridem kyseliny octové nebo β -butyrolaktonem větší jasnost získaného PHB, nedalo se očekávat, že přísada menšího množství podle vynálezu mezi 1 a 10 objemovými % anhydridu kyseliny octové nebo β -butyrolaktonu k extrakčnímu prostředku kyseliny octové způsobí podstatné vystupňování jasnosti produktu, v protikladu k používání těchto produktů v čisté formě.

- 50 Použitím cenově výhodného extrakčního prostředku kyseliny octové s přísadou alifatického anhydridu karbonové kyseliny nebo laktonu alifatické hydroxykarbonové kyseliny v malém množství se dosahuje velmi vysoký stupeň jasnosti PHA.

Způsob získávání polyhydroxyalkanoátů bez barviva podle vynálezu bude dále blíže vysvětlen na jednotlivých příkladech:

1. Expanzí sušená bakteriová biohmota (jasnost L podle HUNTERa Lab = 64,5) se extrahuje v poměru 1 : 10 při teplotě varu extrakčního prostředku kyseliny octové a ošetřuje známým způsobem. U získané polyhydroxykyseliny máselné PHB bylo naměřeno L = 75,3.
2. Stejná bakteriová biohmota jako v příkladě 1 se v poměru 1 : 10 extrahuje extrakčním prostředkem anhydridem kyseliny octové při teplotě varu a vysráží se známým způsobem. Takto získaný PHB má jasnost L = 86,1.
3. Bakteriová biohmota podle příkladů 1 a 2 se v poměru 1 : 10 extrahuje při teplotě 100 °C extrakčním prostředkem β -butyrolaktonem a PBH se vysráží ochlazením. Po známém dodatečném zpracování bylo pro PHB naměřena jasnost L = 84,6.

Příklad 1

Expanzí sušená bakteriová biohmota byla před extrakcí podrobena v sušičce tepelnému zpracování. Spodní hranice rozsahu teploty tavení polyhydroxykyseliny máselné byla 160 °C. Pak následovala extrakce zpracovávané bakteriové biohmoty kyselinou octovou v poměru 1 : 10, ke které bylo přidáno v jednom případě jedno objemové procento a v druhém případě 10 objemových procent anhydridu kyseliny octové, vztaženo na celkový objem extrakčního prostředku. Pro PHB byly získány následující jasnosti L (podle HUNTERa):

Podíl anhydridu kyseliny octové v objemových % k extračnímu prostředku		1				10			
Doba zpracování v min.		10	10	120	120	10	10	120	120
Teplota zpracování v °C		80	160	80	160	80	160	80	160
Jasnost L		91,9	92,0	92,0	92,2	92,2	92,8	92,2	93,2

Příklad 2

Jako u příkladu 1 se expanzí sušená bakteriová biohmota před extrakcí podrobila tepelnému zpracování. K extrakčnímu prostředku však byl přidán β -butyrolakton v jednom objemovém %, případně 10 objemových %, vztaženo na celkový objem extrakčního prostředku. Byly získány následující jasnosti PHB (podle HUNTERa):

Podíl β -butyrolaktonu
v objem. %
k extrakčnímu prostředku

	1				10			
Doba zpracování v min.	10	10	120	120	10	10	120	120
Teplota zpracování v °C	80	160	80	160	80	160	80	160
Jasnost L	80,8	82,0	81,8	82,4	82,3	86,7	87,7	90,3

PATENTOVÉ NÁROKY

5

Způsob získávání polyhydroxyalkanoátů bez barviva z bakteriové biohmoty, přednostně z bakteriové biohmoty kultury mikroorganismů *Methylobacterium rhodesianum* IMET 11401-DSM 8166, při němž se nejdříve provádí sušení vlhké biohmoty, poté se provádí extrakce sušené biohmoty kyselinou octovou, anhydridem kyseliny octové nebo butyrolaktonem a poté se provádí

10 vysrážení polyhydroxyalkanoátu, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že sušená bakteriová biohmota se vystaví po dobu 10 až 120 minut teplotě mezi 80 °C a spodní hranicí rozsahu teploty tavení polyhydroxyalkanoátu a k extrakčnímu prostředku se přidává v % 1 až 10 objemových podílů anhydridu kyseliny octové nebo β -butyrolaktonu, vztaženo na celkový objem extrakčního

15 prostředku.

15

20

Konec dokumentu
