



(19) **EESTI VABARIIK**
RIIGI PATENDIAMET



(11) **EE 03060 B1**

(51) Int. Cl.⁶: C12P 7/62
C08G 63/90

(12) **PATENDIKIRJELDUS**

(21) Patenditaotluse number:	P 9400076	(73) Patendiomanik:	Buna GmbH 06258 Schkopau, DE
(22) Patenditaotluse esitamise kuupäev:	29.09.1994	(72) Leiutise autorid:	Olaf Lehmann Hemingwaystraße 22, 06126 Halle, DE Torsten Mayer Am Hohen Ufer 15, 06132 Halle, DE Inno Rapphel Am Sonnenhang 45, 06120 Halle, DE Klaus-Dieter Rauchstein Rudolf-Breitscheid-Steg 10, 06184 Döllnitz, DE Dietmar Runkel Feldschlößchenweg 48, 06217 Merseburg, DE Jürgen Schaffer Myrtenweg 8, 06122 Halle, DE
(30) Prioriteediandmed:	14.05.1992 DE P4215860.5 14.05.1992 DE P4215861.3 14.05.1992 DE P4215862.1	(74) Patendivolinik:	Harald Tehver AS Turvaja Kaupmehe 8 EE0001 Tallinn, EE
(24) Patendi kehtivuse alguse kuupäev:	29.09.1994		
(41) Patenditaotluse avaldamise kuupäev:	15.12.1995		
(45) Patendikirjelduse avaldamise kuupäev:	15.12.1997		

(54) **Meetod värvainevabade polühüdrosüalkanoaatide saamiseks**

(57) Leiutis käsitleb värvainevabade polühüdrosüalkanoaatide saamise meetodit, millised tekivad rakkudes varuainetena bakteriaalse biomassi kultiveerimise käigus. Kuivatatud bakteriaalset biomassi töödeldakse seejärel termiliselt 10 kuni 120 minuti vältel temperatuurivahemikus alates 80 °C kuni polühüdrosüalkanoaadi sulamispirkonna alumise piirini ning ekstraheeritakse seejärel äädikhappega, millele on lisatud 1 kuni 10 mahuprotsenti alifaatset karboksüülhappederivaati.

(57) The invention relates to a method for obtaining colorant-free polyhydroxyalkanoates, which are formed in cells as storage products during the cultivation of bacterial biomass. Following the dried bacterial biomass is thermally treated from 10 to 120 minutes at a temperature between 80 °C and the lower limit value of polyhydroxyalkanoate melting (fusion) range and is then extracted with acetic acid mixed with 1 to 10 volume percent of aliphatic carboxylic acid derivative.

MEETOD VÄRVAINEVABADE POLÜHÜDROKSÜALKANOAAATIDE SAAMISEKS

Leiutis käsitleb meetodit värvainevabade polühüdrosüalkanoaatide (PHA) saamiseks,
5 milliseid sünteesitakse varuainetena bakterite biomassis nende rakkude poolt teatud
kindlatel tingimustel.

Kindlaksmääratud fermentatsioonitingimuste korral sünteesivad erinevad
mikroorganismid polümeerseid β -hüdrosüalkaanhappeid, näiteks
10 polühüdrosüvõihapet (PHV) või kopolümeerset polühüdrosüvõihapet/polü-
hüdrosüpalderjanhapet, samuti teisi polühüdrosükarboksüülhappeid. Lisaks nendele
ainetele tekivad rakkudes alati ka lipiidid ja värvained. Saadud PHA edasise
töötlemise juures mõjuvad need ained häirivalt kui ebasoovitavad lisandid. On teada
meetodeid, mille puhul lipiidid ja värvained eemaldatakse madalamate alkoholide või
15 atsetooni abil (EP 15123, EP 58480, EP 124309). Mõningate karotinoidsete
värvainete puhul aga ei saavutata nimetatud lahustamismenetluste abil soovivat
värvuspuhtust, s.t. lõpptulemusena valget polümeeri.

Teine võimalus on sadestada saadud polümeer ümber PHA-lahustiga (DD 276304).
20 Seejuures tuleb ühelt poolt arvestada ahela pikkusega polümeeri molekulis ning teiselt
poolt sellega, et kasutatavate lahustite ja sadestusvahendite paljusus ja/või erisugusus
raskendab PHA töötlemise lõpuleviimist. Samuti on oodata lahustite ja
sadestusvahendite jääkide suuremat sisaldust PHA-s.

25 Leiutise ülesandeks on eemaldada PHA-st värvained, mis on moodustunud
mikroorganismide rakkudes nende kultiveerimise ja PHA akumulatsiooni protsessis.

Värvainevaba PHA saamise meetodil bakteriaalsest biomassist, eelistatult
mikroorganismide kultuuri MB 126 bakteriaalsest biomassist, kasutades meetodi
30 etappidena niiske bakteriaalse biomassi kuivatamist, PHA ekstraheerimist äädikhappe
abil ning ekstraheerimisvahendis lahustatud PHA sadestamist, lahendatakse püstitatud

ülesanne käesoleva leiutise kohaselt seeläbi, et kuivatatud bakteriaalset biomassi töödeldakse enne ekstraktsiooni lisaks ka termiliselt. Selleks töödeldakse kuivatatud bakteriaalset biomassi 10 kuni 120 minuti jooksul temperatuurivahemikus alates 80 °C kuni polühüdrosüalkanoaadi sulamispirkonna alumise piirini. Nimetatud termilise 5 töötlemise ajal läheb bakteriaalses biomassis sisalduv värvaine üle niisugusesse vormi, mis ei avalda enam mingit segavat mõju polümeeri edasisele töötlemisele. Järgnevas ekstraktsiooniprotsessis lisatakse ekstraheerimisvahendina kasutatavale äädikhappele 1 kuni 10 mahuprotsenti ekstraheerimisvahendi kogumahust alifaatset karboksüülhappe derivaati. Alifaatse karboksüülhappe derivaadina võib kasutada 10 näiteks äädikhappeanhüdriidi või β -butürolaktooni.

Ekstraktsioon viiakse läbi tavalistel tingimustel. Võrreldes tuntud meetoditega võimaldab pakutav meetod, mille puhul ekstraktsioonile järgneb PHA väljasadestamine ekstraheerimisvahendist tavaliste menetluste abil, saada heledama 15 värvusega PHA-d. Alifaatsete karboksüülhapete derivaadid ja värvaine jäävad ekstraheerimisvahendi koosseisu.

Üllatuslikult saadi pärast PHA töötlemist äädikhapest ja äädikhappeanhüdriidist koosneva leiutisele vastava lahustiseguga produkt, milles sisaldus väiksem kogus 20 värvainet kui juhul, kui ekstraheerimisvahendina oleks kasutatud kas puhast äädikhapet või puhast äädikhappeanhüdriidi, koos sadestamisega harilikul viisil. Ehkki kasutades ekstraheerimisvahendina äädikhappeanhüdriidi saavutatakse väiksem värvainesisaldus polümeerses materjalis, ei olnud oodata, et äädikhappeanhüdriidi lisamine 1 kuni 10 mahuprotsendi ulatuses äädikhappele kui ekstraheerimisvahendile 25 annab tulemuseks oluliselt väiksema värvainesisalduse, võrreldes sellega, kui oleks saadud ekstraheerides puhta äädikhappeanhüdriidiga.

Käesoleva meetodi eeliseks on täiendavate lahustite kasutuselevõtu vältimine kuivatatud bakteriaalse biomassi eekstraheerimise staadiumis, mis oli vajalik 30 värvaineosa eemaldamiseks sellest biomassist enne PHA ekstraktsiooni. Eeliseks on

ka eriti suure ahelapikkusega polümeeri saamise võimalus PHA ümbersadestamiseks vajalike lisaetappide ärajäämise tulemusena.

Leiutist selgitavad lähemalt järgmised näited:

5

Võrdlusnäide

Lendkuivaks kuivatatud bakteriaalset biomassi (heledusega L HUNTER'i järgi, Lab = 64,5) ekstraheeritakse äädikhappega vahekorras 1:10 äädikhappe keemistemperatuuril ning töödeldakse tavalisel viisil. Saadud polühüdrosüvõihappe (PHV) jaoks mõõdeti

10 L = 75,3 .

Näide 1

Lendkuivaks kuivatatud bakteriaalset biomassi töödeldi termiliselt enne ekstraheerimist kuivatuskapis. Polühüdrosüvõihappe sulamispiirkonna alumine piir oli 160 °C juures. Sellele järgnes töödeldud bakteriaalse biomassi ekstraheerimine vahekorras 1:10 äädikhappe abil, millele oli ühel juhul lisatud 1 mahuprotsent ning teisel juhul 10 mahuprotsenti ekstraheerimisvahendi kogumahust äädikhappeanhüdriidi. Polühüdrosüvõihappe jaoks saadi järgmised heledused L (HUNTER'i järgi):

20

Äädikhappeanhüdriidi osa mahuprotsentides ekstraheerimisvahendist	1				10			
	Termilise töötuse aeg minutites	10	10	120	120	10	10	120
Termilise töötuse temperatuur °C	80	160	80	160	80	160	80	160
Heledus L	91,9	92,0	92,0	92,2	92,2	92,8	92,8	93,2

Näide 2

Vastavalt näitele 1 töödeldi lendkuivaks kuivatatud bakteriaalset biomassi termiliselt enne ekstraheerimist. Ekstraheerimisvahendina kasutati äädikhapet, millele oli lisatud vastavalt kas 1 mahuprotsent või 10 mahuprotsenti ekstraheerimisvahendi kogumahust β -butürolaktooni. Saadud polühüdrosüvõihappe heledused L (HUNTER'i järgi) olid järgmised:

β -butürolaktooni osa mahuprotsentides ekstraheerimisvahendist	1				10			
	Termilise töötuse aeg minutites	10	10	120	120	10	10	120
Termilise töötuse temperatuur °C	80	160	80	160	80	160	80	160
Heledus L	80,8	82,0	81,8	82,4	82,3	86,7	87,7	90,3

PATENDINÕUDLUS

1. Meetod värvainevabade polühüdrosüalkanoaatide saamiseks bakteriaalsest biomassist, eelistatult mikroorganismide kultuuri MB 126 bakteriaalsest biomassist, niiske biomassi kuivatamise, kuivatatud biomassi ekstraheerimisega äädikhappe abil ja
- 5 niiske biomassi kuivatamise, kuivatatud biomassi ekstraheerimisega äädikhappe abil ja polühüdrosüalkanoaadi sadestamisega, **mis on iseloomustatav sellega**, et kuivatatud bakteriaalset biomassi töödeldakse termiliselt 10 kuni 120 minuti jooksul temperatuurivahemikus alates 80 °C kuni polühüdrosüalkanoaadi sulamispirkonna alumise piirini, ning ekstraheerimisvahend sisaldab 1 kuni 10 mahuprotsenti
- 10 ekstraheerimisvahendi kogumahust alifaatset karboksüülhappe derivaati.
2. Meetod vastavalt nõudluspunktile 1, **mis on iseloomustatav sellega**, et alifaatseks karboksüülhappe derivaadiks on äädikhappeanhüdiid.
- 15 3. Meetod vastavalt nõudluspunktile 1, **mis on iseloomustatav sellega**, et alifaatseks karboksüülhappe derivaadiks on β -butürolaktoon.