

## MEETOD VÄRVAINEVABADE POLÜHÜDROKSÜALKANOAAATIDE SAAMISEKS

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

Kindlaksmääratud fermentatsioonitingimuste korral sünteesivad erinevad mikroorganismid  
10 polümeerseid  $\beta$ -hüdroksüalkaanhappeid, näiteks polühüdroksüvõihapet (PHV) või  
kopolümeerset polühüdroksüvõihapet/polühüdroksüpalderjanhapet, samuti ka teisi  
polühüdroksükarboksüülhappeid. Nende ainete kõrval tekivad rakkudes alati ka lipiidid ja  
värvained. Saadud PHA edasise töötlemise juures mõjuvad need ained häirivalt kui  
ebasoovitavad lisandid. On teada meetodeid, mille puhul eemaldatakse lipiidid ja  
15 värvained madalamate alkoholide või atsetooni abil (EP 15 123, EP 58 480, EP 124 309).  
Mõningate karotinoidsete värvainete puhul ei saavutata nimetatud lahustamismenetluste  
abil soovivat värvuspuhtust, s.t. lõpptulemusena valget polümeeri.

Teine võimalus on saadud polümeeri ümbersadestada PHA-lahustiga (DD 276 304).  
20 Seejuures tuleb ühelt poolt arvestada ahela pikkusega polümeeri molekulis ning teiselt  
poolt sellega, et kasutatavate lahustite ja sadestusvahendite arvukus ja/või erisugusus  
raskendab PHA töötlemise lõpuleviimist. On oodata ka lahustite ja sadestusvahendite  
jääkide suuremat sisaldust PHA-s.

25 Leiutise ülesandeks on eemaldada PHA-st värvained, millised 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 astmetena niiske bakteriaalse biomassi kuivatamist, PHA ekstraheerimist äädikhappe abil  
ning ekstraheerimisvahendis lahustatud PHA sadestamist, lahendatakse püstitatud  
ülesanne käesoleva leiutise kohaselt seeläbi, et kuivatatud bakteriaalset biomassi enne

ekstraktsiooni töödeldakse lisaks ka termiliselt. Selleks töödeldakse kuivatatud bakteriaalset biomassi 10 kuni 120 minuti jooksul temperatuuril, mille väärtus on 80°C ja selle temperatuuri vahel, mis kujutab endast polühüdrosüalkanoaadi sulamispiirkonna alumist piiri. Nimetatud termilise 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 alifaatset karboksüülhappederivaati, arvestatuna ekstraheerimisvahendi koguruumala suhtes. Alifaatse karboksüülhappederivaadina võib kasutada näiteks äädikhappeanhüdriidi või  $\beta$ -butürolaktooni.

Ekstraktsioon viiakse läbi tavalistel tingimustel. Võrreldes tuntud meetoditega annab pakutav meetod, mille puhul ekstraktsioonile järgneb PHA ekstraheerimisvahendist tavaliste menetluste abil väljasadestamise aste, heledama värvusega PHA. Alifaatsete karboksüülhapete derivaadid ja värvaine jäävad ekstraheerimisvahendi koosseisu.

Üllatuslikult saadi pärast PHA töötlemist äädikhapest ja äädikhappeanhüdriidist koosneva leiutisekohase lahustiseguga produkt, milles sisaldus väike kogus värvainet. See produkt oli praktiliselt samasugune nagu juhul, kui ekstraheerimisvahendina oleks kasutatud puhast äädikhapet või puhast äädikhappeanhüdriidi, koos sadestamisega harilikul viisil. Ehkki äädikhappeanhüdriidi ekstraheerimisvahendina kasutades saavutatakse väiksem värvainesisaldus polümeerses materjalis, ei olnud oodata, et äädikhappeanhüdriidi lisamine 1 kuni 10 mahuprotsendi ulatuses äädikhappele kui ekstraheerimisvahendile annab tulemuseks oluliselt väiksema värvainesisalduse, võrreldes sellega, kui oleks ekstraheeritud puhta äädikhappeanhüdriidiga.

Käesoleva meetodi eeliseks on täiendavate lahustite kasutuselevõtu vältimine kuivatatud bakteriaalse biomassi eekstraheerimise staadiumis, mis on vajalik värvaineosa eemaldamiseks sellest biomassist enne PHA ekstraktsiooni. Eeliseks on ka eriti suure ahelapikkusega polümeeri saamise võimalus PHA ümbersadestamiseks vajalike lisaastmete ärajäämise tulemusena.

Leiutist selgitavad lähemalt järgmised näited:

### Võrdlusnäide

- 5 Lendkuivaks kuivatatud bakteriaalset biomassi (heledusega L HUNTER'i järgi, Lab = 64,5) ekstraheeritakse äädikhappega suhtes 1 : 10 äädikhappe keemistemperatuuril ning töödeldakse tavalisel viisil. Saadud polühüdrosüvõihappe (PHV) jaoks mõõdeti L = 75,3 .

### Näide 1

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

Äädikhappeanhüdrüidi osa mahuprotsentides ekstraheerimisvahendist	1				10			
	Termilise töötamise aeg minutites	10	10	120	120	10	10	120
Termilise töötamise 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

- 20 Vastavalt näitele 1 töödeldi termiliselt lendkuivaks kuivatatud bakteriaalset biomassi enne ekstraheerimist temperatuursele töötamisele. Ekstraheerimisvahendina kasutati äädikhapet, millele oli lisatud vastavalt kas 1 mahuprotsent või 10 mahuprotsenti  $\beta$ -butürolaktooni, arvestatuna ekstraheerimisvahendi kogumahu suhtes. 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 polühüdrosüalkanoaadi sadestamisega, **mis on iseloomustatav sellega**, et kuivatatud bakteriaalset biomassi töödeldakse termiliselt 10 kuni 120 minuti jooksul temperatuuril, mille väärtus on 80°C ja polühüdrosüalkanoaadi sulamiskiirkonna alumist piiri tähistava väärtuse vahel, ning et ekstraheerimisvahend sisaldab 1 kuni 10 mahuprotsenti alifaatset karboksüülhappederivaati, arvestatuna ekstraheerimisvahendi koguruumala suhtes.

2. Meetod vastavalt Nõudluspunktile 1, **mis on iseloomustatav sellega**, et alifaatne karboksüülhappederivaat kujutab endast äädikhappeanhüdrüidi.

15

3. Meetod vastavalt Nõudluspunktile 1, **mis on iseloomustatav sellega**, et alifaatne karboksüülhappederivaat kujutab endast  $\beta$ -butürolaktooni.

## LÜHIKOKKUVÕTE

5 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 temperatuuril, mille väärtus on 80°C ja polühüdrosüalkanoaadi sulamispirkonna alumist piiri tähistava väärtuse vahel ning ekstraheeritakse seejärel äädikhappega, millele on lisatud 1 kuni 10 mahuprotsenti alifaatset karboksüülhappederivaati.

**ABSTRACT**

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. Followingly 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.