



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0033411

(51)⁸ C12P 7/42; C12N 1/28; C07C 29/86;
C12M 1/00

(13) B

(21) 1-2018-00436

(22) 13/07/2016

(86) PCT/FR2016/051815 13/07/2016

(87) WO 2017/013335 26/01/2017

(30) 1556976 23/07/2015 FR

(45) 26/09/2022 414

(43) 25/06/2018 363A

(73) AFYREN (FR)

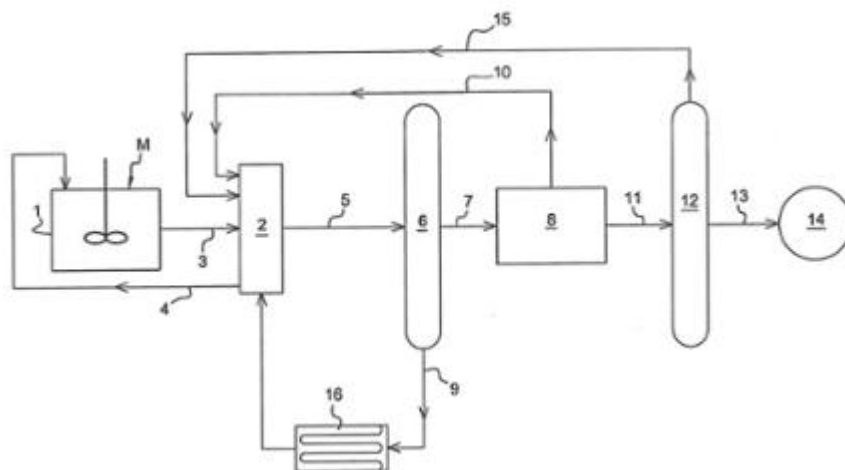
Biopole Clermont Limagne, 63360 Saint Beuzire, France

(72) Régis NOUAILLE (FR); Jérémy PESSIOT (FR).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÁCH TRỰC TIẾP CÁC AXIT CACBOXYLIC CÓ 1 ĐẾN 9 NGUYÊN TỬ CACBON SINH RA BỞI QUÁ TRÌNH LÊN MEN KỶ KHÍ TỪ SINH KHỐI CÓ THỂ LÊN MEN

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp phân tách trực tiếp các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon, được tạo ra bởi các vi sinh vật trong bình phản ứng lên men bằng quá trình lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men, quá trình phân tách này có dạng lỏng-lỏng, bao gồm các bước sau: a) bắt đầu quá trình phân tách khi sự sản sinh của các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon đạt đến lượng định trước trong hình phản ứng lên men, b) chọn dung môi phân tách nội sinh trong số các axit cacboxylic có ít nhất 4 nguyên tử cacbon sinh ra trong quá trình lên men kỵ khí, c) cho dung môi phân tách nội sinh tiếp xúc với một phần môi trường lên men từ bình phản ứng lên men, d) phân tách trực tiếp các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon từ môi trường lên men, e) phân tách các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon từ dung môi nội sinh, f) thu và lưu trữ hoặc sử dụng các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon thu được trong bước e.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp phân tách các axit cacboxylic được sinh ra trong quá trình lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men. Phương pháp này đặc biệt được sử dụng cho việc phân tách axit cacboxylic trong pha lỏng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thuật ngữ “sinh khối có thể lên men” chỉ các cơ chất hữu cơ, tốt hơn là cơ chất không phải là thực phẩm thu được từ rác thải, các sản phẩm phụ và các đồng sản phẩm được tạo thành từ nguyên liệu hữu cơ, tức là sinh khối phát sinh từ các hoạt động của con người, có thể là từ các hoạt động của gia đình, hoạt động công nghiệp, hoạt động nông nghiệp, hoạt động lâm nghiệp, hoạt động nuôi trồng thủy hải sản hoặc các hoạt động xử lý thực phẩm, hoặc có nguồn gốc từ việc trồng trọt. Bằng cách ví dụ của các ví dụ không giới hạn, sinh khối có thể lên men được đề cập, như là cơ chất hữu cơ, từ phân bón, phần hữu cơ của chất thải hộ gia đình, các đồng sản phẩm của lò mổ, các bã xenlulozơ và lignoxenlulozơ có nguồn gốc từ công nghiệp xử lý thực phẩm, như bã thải có nguồn gốc từ việc chuyển đổi của mía đường (bã mía), của hoa hướng dương hoặc đậu tương.

Thuật ngữ “lên men kỵ khí” chỉ phương thức lên men xảy ra trong các điều kiện không có không khí bằng các vi sinh vật nhân sơ và nhân chuẩn, như vi khuẩn, nấm, tảo và nấm men.

Giữa nhiều loại chất chuyển hóa lên men, các axit cacboxylic là các chất chuyển hóa lên men còn được gọi là tiền chất, cần phải hiểu rằng các chất chuyển hóa trung gian khác cũng được gọi là tiền chất. Bằng các ví dụ không giới hạn, các tiền chất có thể bao gồm các axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit valeric, axit caproic, axit heptanoic, axit octanoic, axit nonaoic và axit pheylaxetic. Sau đó, các tiền chất này cho phép sản xuất các phân tử có năng lượng lớn hơn và/hoặc hóa chất quan tâm, cần phải hiểu rằng chúng là các phân tử hữu cơ. Các phân tử có năng lượng

lớn hơn và/hoặc các chất hóa học quan tâm được đề cập ví dụ các phân tử mà có mạch cacbon như các axit, hydrocacbon, metan, este, rượu, amit hoặc polyme.

Phần trích dẫn đề cập đến các axit cacboxylic, cần phải hiểu rằng sáng chế áp dụng đối với việc phân tách các chất chuyển hóa lên men nói chung. Các axit cacboxylic, và cụ thể là các axit béo dễ bay hơi hoặc các VFA, có thể được chuyển đổi, ví dụ, các keton, alken, rượu và alken. Cần phải hiểu rằng chính sự lên men này còn tạo ra các chất chuyển hóa khác ngoài các axit cacboxylic, với lượng lớn hơn hoặc ít hơn. Các chất chuyển hóa khác có thể được tạo thành, không kể các chất khác không được đề cập, như các este, khí, axit lactic, rượu, hydro và cacbon dioxit. Hơn nữa, người ta đã biết rằng sự tạo thành các axit cacboxylic được thực hiện bằng quá trình lên men kỵ khí dẫn đến quá trình axit hóa của môi trường mà gây hại cho các vi sinh vật. Do quá trình axit hóa của môi trường gây ra sự ức chế vi sinh vật, và do đó làm chậm hoặc thậm chí ngăn chặn quá trình lên men, nên cần phải thực hiện theo chu kỳ. Vì nguyên nhân này, các axit cacboxylic được phân tách trong các bước khác nhau, sau thời gian lên men đã cho. Do đó quá trình phân tách không cho phép tạo thành các phân tử “tiền chất” liên tục và nhanh, hiệu suất không được tối ưu. Hơn nữa, chính phương pháp phân tách theo chu kỳ sử dụng các chủng vi sinh vật và tạo ra chất thải không có hoặc có khả năng khai thác thấp. Tốt hơn là cần quy tranh phân tách tối ưu các axit cacboxylic được sản sinh trong quá trình lên men kỵ khí mà không làm ức chế các vi sinh vật. Phương pháp phân tách chất chuyển hóa, trong trường hợp ở điểm butanol, bằng cách sử dụng dung môi phân tách chứa axit cacboxylic, đã được biết đến trong công bố đơn quốc tế số WO-A-2011/063391. Dung môi là dung môi thương mại có sẵn. Phương pháp xử lý nước có thể phân tách các hợp chất hữu cơ, bao gồm các amin, amino axit và phenol, sử dụng làm dung môi của dung môi hữu cơ, trong trường hợp điểm vào là axit cacboxylic không trộn lẫn trong nước, để thu pha hữu cơ và pha nước, đã được biết đến trong tài liệu số FR-A-2 591 505. Điều đó chứng tỏ là trong trường hợp này các phương pháp không thích hợp để phân tách các chất chuyển hóa, như các axit cacboxylic, được tạo ra liên tục bằng quá trình lên men.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để khắc phục những nhược điểm này, mục tiêu của sáng chế là đề xuất phương

pháp phân tách mà có thể thực hiện theo phương thức liên tục, tương thích sinh học, thông thường và có kiểm soát và có lượng tối thiểu chất thải không thể khai thác và không làm ức chế vi sinh vật, các chất chuyển hóa lên men “tiền chất” khác nhau thu được bằng quá trình lên men kỵ khí.

Để đạt được mục tiêu nêu trên, đối tượng của sáng chế là phương pháp phân tách các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon, được sinh ra bởi các vi sinh vật trong bình phản ứng lên men bằng quá trình lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men, việc phân tách này có dạng lỏng-lỏng, bao gồm ít nhất một trong các bước sau:

a) chọn dung môi phân tách nội sinh giữa ít nhất là một trong các axit cacboxylic sinh ra trong quá trình lên men kỵ khí, sao cho số lượng cacbon của dung môi lớn hơn hoặc bằng số lượng cacbon của axit cacboxylic được phân tách, có tỷ trọng thấp hơn tỷ trọng của nước và điểm sôi là trên 70°C trong các điều kiện áp suất thông thường,

b) cho dung môi phân tách được chọn tiếp xúc với môi trường lên men, mà không làm gián đoạn quá trình lên men, bên ngoài bình phản ứng lên men,

c) phân tách các chất chuyển hóa lên men từ dung môi phân tách bằng các phương thức của ít nhất là một quá trình chưng cất,

d) thu và lưu trữ hoặc sử dụng các chất chuyển hóa lên men thu được trong bước c).

Phương pháp này có thể tách liên tục các chất chuyển hóa lên men, trong khi duy trì được sản lượng của các vi sinh vật có mặt trong bình phản ứng sinh học.

Thuật ngữ “nội sinh” nên được hiểu là chỉ hợp chất, hoặc hỗn hợp của các hợp chất, mà được sinh ra, như không chỉ giới hạn các hợp chất này, bằng quá trình lên men kỵ khí. Nói cách khác, dung môi nội sinh có thể được sinh ra bằng các con đường khác mà tạo ra các sản phẩm tương tự, nếu không nói là đồng nhất, mà tạo thành trong quá trình lên men kỵ khí, không kể đến lượng sản phẩm được sinh ra.

Các bước phân tách có thể không chỉ thu liên tục các phân tử sinh ra trong bình phản ứng lên men, mà còn duy trì các vi sinh vật tham gia tạo ra các sản phẩm, việc phân tách được thực hiện, do các dung môi nội sinh, trong các điều kiện không gây

chế cho tất cả các vi sinh vật, tức là, trong các điều kiện phân tách tương thích sinh học. Theo cách này, các vấn đề liên quan đến quá trình tích tụ của các tiền chất trong bình phản ứng lên men được xử lý, ví dụ quá trình axit hóa của môi trường lên men do tích tụ của các axit cacboxylic sinh ra gây hại cho các vi sinh vật. Hoạt động của các vi sinh vật được duy trì ở mức cao, gần mới mức khởi đầu, thông qua chu kỳ lên men.

Theo các khía cạnh được ưu tiên nhưng không bắt buộc của sáng chế, chính phương pháp này bao gồm một hoặc nhiều các đặc điểm sau đây:

- Trong bước a) dung môi phân tách nội sinh là axit cacboxylic có ít nhất là 4 cacbon.
- Sau bước c), và trước bước d), các axit cacboxylic được phân tách, bằng quá trình chưng cất, trong bước bổ sung e), từ nước của pha hữu cơ thu được trong bước c).
- Dung môi phân tách là axit cacboxylic có từ 4 đến 9 nguyên tử cacbon.
- Dung môi phân tách là axit cacboxylic có từ 7 hoặc 9 nguyên tử cacbon.
- Dung môi phân tách được chọn từ nhóm bao gồm axit heptanoic, axit octanoic hoặc axit nonanoic.
- Bước để lắng bổ sung f), giữa bước c) và bước d), cho phép sự phân tách thứ nhất giữ pha hữu cơ và pha nước.
- Trong quá trình cho môi trường lên men tiếp xúc với dung môi phân tách bên ngoài bình phản ứng, môi trường lên men được thực hiện liên tục.
- Trong quá trình cho môi trường lên men tiếp xúc với dung môi phân tách bên ngoài bình phản ứng, môi trường lên men được thực hiện tuần tự.
- Sau các bước b) và c), ít nhất một phần của pha lỏng kết quả từ quá trình phân tách được đưa trở lại vào trong bình phản ứng lên men và kết hợp vào trong môi trường lên men.

Sáng chế cũng đề cập đến thiết bị để thực hiện phương pháp theo một trong các đặc điểm trước đó, thiết bị này bao gồm ít nhất là:

- một bình phản ứng lên men;

- một bộ phận tách thích hợp để đưa môi trường lên men tiếp xúc với dung môi phân tách,

- ít nhất là một bộ phận chung cất.

Theo các khía cạnh được ưu tiên nhưng không bắt buộc của sáng chế, chính thiết bị này bao gồm một hoặc nhiều các đặc điểm sau đây:

- thiết bị cũng bao gồm ít nhất hai bộ phận chung cất và ít nhất một bộ phận làm lắng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Cần phải hiểu rằng, sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn và các ưu điểm khác của sáng chế sẽ được nêu ra rõ ràng hơn trong phần mô tả chi tiết theo một số phương án của sáng chế kết hợp tham chiếu đến các hình vẽ kèm theo.

Fig.1 là biểu đồ minh họa một phương án của phương pháp là đối tượng theo sáng chế bao gồm hai quá trình chung cất và một bộ phận làm lắng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các bước khác nhau của phương pháp bây giờ sẽ được mô tả với tham chiếu đến Fig.1, cần phải hiểu rằng các bước đã biết sẽ không được mô tả chi tiết hoặc được bỏ qua. Cần phải lưu ý rằng Fig.1 minh họa phương pháp bao gồm hai quá trình chung cất, tức là, phương án thể hiện giải pháp được ưu tiên có hiệu quả kinh tế đối với các thiết bị có kích thước thông thường. Thiết bị có trạm chung cất đơn là có thể về mặt kỹ thuật và thậm chí được ưu tiên, nhưng, để có hiệu quả kinh tế, cần có các thiết bị có kích thước lớn hơn, như là thiết bị có kích thước bắt gặp trong nhà máy lọc dầu công nghiệp.

Hơn nữa, việc phân tách các axit cacboxylic, bằng cách ví dụ, sẽ được mô tả tuần tự, cần phải hiểu rằng các chất chuyển hóa lên men khác cũng có thể được tách bằng các axit cacboxylic nội sinh.

Đầu tiên, cơ chất S được sử dụng cho quá trình lên men là, tốt hơn là chưa được xử lý, tức là nó chưa trải qua quá trình tiền xử lý hóa lý hoặc enzym. Cơ chất S này chủ yếu tạo thành sinh khối có thể lên men. Bằng cách ví dụ không giới hạn, việc

đề cập được tạo thành từ chất thải nông nghiệp hoặc thực vật (rơm, bã mía, ngô, cỏ dại, gỗ, các miếng cắt/mẫu), giấy thải (bìa cứng, giấy báo), chất thải xử lý thực phẩm, chất thải từ lò mổ, phần chất thải sinh hoạt hữu cơ, chất thải nông nghiệp (phân bón, phân bón lỏng, phân chim thú), tảo, chất thải nuôi trồng thủy hải sản, chất thải từ hoạt động lâm nghiệp hoặc cũng như các đồng sản phẩm lên men từ công nghiệp mỹ phẩm. Các cơ chất nhất định chứa các phân tử hữu cơ, như các axit hữu cơ, mà sẽ không ảnh hưởng, hoặc ảnh hưởng ít, đến quá trình lên men. Mặt khác, những phân tử này có thể được tìm thấy trong môi trường lên men và có thể tham gia, ví dụ, trong quá trình sản xuất các phân tử hữu cơ cuối cùng được xác định.

Cơ chất S được đưa vào trong bình phản ứng lên men 1, đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật trước và được phân tỷ lệ theo yêu cầu sản xuất mong muốn, có thể là tỷ lệ thực hiện trong quy mô phòng thí nghiệm hoặc trong quy mô công nghiệp. Nói cách khác, bình phản ứng lên men 1 hoặc bình phản ứng sinh học có thể tích nằm trong khoảng từ vài lít đến vài trăm mét khối, nếu cần thiết.

Tốt hơn là, các vi sinh vật được bắt đầu đưa vào trong bình phản ứng lên men, với lượng đủ để bắt đầu quá trình lên men. Tốt hơn là, các vi sinh vật được ủ ấm trong dạng liên hiệp, được minh họa bằng mũi tên M. Thuật ngữ “liên hiệp” chỉ hỗn hợp hoặc việc trộn các vi sinh vật nhân sơ và nhân chuẩn, chúng có thể thể là vi khuẩn, nấm men, nấm hoặc tảo. Những vi sinh vật này cơ bản xuất phát từ hệ sinh thái tự nhiên, tốt hơn là không giới hạn là các hệ sinh thái kỵ khí như, bằng cách ví dụ không giới hạn, vùng kỵ khí của môi trường nước, như vùng thiếu oxy của các hồ, đất, đầm lầy, bùn tinh chế, dạ dày cỏ của động vật nhai lại hoặc ruột của mối. Cần phải hiểu rằng định tính và sự phân bố định tính của nhiều loại hoặc loài vi sinh vật khác nhau trong liên hiệp M không được biết một cách rõ ràng đặc biệt là có thể khác nhau với các tỷ lệ lớn. Chứng tỏ trong trường hợp này rằng định tính và mức độ đa dạng định tính đáng ngạc nhiên cung cấp sự chịu đựng và thích nghi của vi sinh vật có thể đảm bảo việc sử dụng các cơ chất tối ưu, cho dù hỗn hợp là sau cùng, trong các điều kiện lên men thay đổi.

Ngoài ra, do cơ chất S được sử dụng như là chính nó, tức là, nó không được tiệt trùng hoặc, cụ thể là, các vi sinh vật mà chứa trong cơ chất không được loại bỏ trước

khi đưa vào trong bình phản ứng sinh học 1, chứng minh rằng trong trường hợp các vi sinh vật đặc hữu đối với cơ chất đó, trên thực tế, được kết hợp vào trong liên hiệp M hoặc ít nhất là kết hợp với phần sau của bình phản ứng sinh học 1.

Liên hiệp vi sinh vật M, kết hợp với các vi sinh vật có thể có mặt trong cơ chất 1, cho phép quá trình lên men cơ chất 1, mà không cần bổ sung các sản phẩm như là các enzym. Ngoài ra, quá trình lên men diễn ra trong các điều kiện kỵ khí, chính xác hơn là khi thế oxi hóa-khử nhỏ hơn -200 mV, tốt hơn là nằm trong khoảng từ -550 mV đến -200 mV, và khi độ pH nhỏ hơn 8, tốt hơn là độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7. Tốt hơn là, quá trình lên men giới hạn các sản phẩm của chất chuyển hóa lên men “tiền chất”, cụ thể là các axit cacboxylic. Do vậy, phản ứng tương tự hiện tượng nhiễm axit bất gặp ở động vật nhai lại được cảm ứng, trong khi đồng thời sản phẩm metan gần bằng không. Thông thường, metan là một trong các chất chuyển hóa cuối cùng thu được trong quá trình lên men kỵ khí bởi các vi sinh vật có nguồn gốc từ các hệ sinh thái tự nhiên.

Kết quả của quá trình lên men, đầu tiên, trong công thức của các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon, chủ yếu là từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, như axit axetic, axit propionic và axit butyric. Do đó, các axit cacboxylic có mạch dài hơn, lớn hơn 4 cacbon, cũng thu được, như là axit valeric và axit caproic, axit heptanoic, axit octanoic hoặc axit nonanoic. Bằng việc tiếp tục quá trình lên men và/hoặc bằng việc tăng lượng các vi sinh vật trong bình phản ứng sinh học 1, nếu cần thiết với các vi sinh vật được chọn lọc, có thể thúc đẩy sản lượng của các axit cacboxylic có mạch cacbon dài hơn, lớn hơn 4 nguyên tử cacbon.

Nói cách khác, số lượng các chất chuyển hóa sinh ra trong quá trình lên men về cơ bản là các axit cacboxylic có 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Sau đó, việc tách về cơ bản sẽ liên quan đến sự tách các axit cacboxylic này, cần phải hiểu rằng phương pháp này có thể được thực hiện đối với các axit cacboxylic khác hoặc các chất chuyển hóa lên men khác sinh ra trong các dạng lên men khác.

Quá trình lên men có thể được thực hiện, tốt hơn là, theo phương thức liên tục, theo phương thức chu kỳ, hoặc cũng có thể theo phương thức mẻ lên men cung cấp trong bình phản ứng lên men 1 đơn hoặc trong nhiều bình phản ứng lên men 1 được

bố trí liên tục.

Theo bất kỳ trường hợp nào thì quá trình lên men cũng được thực hiện để đảm bảo sản lượng các axit cacboxylic, trong pha lỏng. Do đó, cần phải hiểu rằng môi trường lên men bao gồm pha rắn chứa, ít nhất là khi bắt đầu, phần rắn của cơ chất S và cũng như phần rắn của liên hiệp vi sinh vật M.

Pha lỏng của môi trường lên men chứa các phân tử sinh ra trong quá trình lên men, hoặc các chất chuyển hóa lên men, và cũng như phần lỏng của cơ chất S, ít nhất là tại thời điểm bắt đầu của quá trình lên men.

Thời gian lên men khác nhau, không kể những cơ chất khác, đối với cơ chất S, các vi sinh vật M có mặt và các điều kiện lên men. Thông thường, khoảng thời gian của quá trình lên men là từ 1 đến 7 ngày, tốt hơn là từ 2 đến 4 ngày. Nồng độ của chất chuyển hóa thu được trong môi trường lên men ở thời điểm kết thúc khoảng thời gian này là khác nhau, nhưng đối với axit cacboxylic, thường là nằm trong khoảng từ 10 đến 20 g/l, đối với các axit cacboxylic, cần phải hiểu rằng, trong các điều kiện nhất định, có thể là lớn hơn 35 g/l, ví dụ là 50 g/l. Tại thời điểm kết thúc của bước lên men, môi trường lên men ở độ pH axit, thường nằm trong khoảng từ 4 đến 6, do sự có mặt của các axit cacboxylic trong môi trường lên men.

Khi sản lượng của các chất chuyển hóa được xác định trước, ví dụ đối với các axit cacboxylic, bằng quá trình lên men của cơ chất S đạt được lượng đã định, thường là trong pha cân bằng của quá trình lên men, bước phân tách phân tử được bắt đầu.

Tốt hơn nhưng không bắt buộc, lượng được xác định trước của các axit cacboxylic tương ứng với việc giảm sự tăng trưởng của vi sinh vật, và do đó trong vùng ngưỡng ức chế vi sinh vật, liên kết đến quá trình axit hóa của môi trường lên men bởi các axit cacboxylic.

Việc phân tách có dạng lỏng-lỏng. Dung môi phân tách là dung môi nội sinh, tức là, dung môi được chọn từ ít nhất là một trong các hợp chất được sinh ra trong quá trình lên men. Cần phải hiểu rằng dung môi này có thể là hỗn hợp của một vài hợp chất sinh ra trong quá trình lên men. Trong trường hợp dung môi nội sinh được chọn từ các axit cacboxylic là phần các chất chuyển hóa lên men.

Thực vậy, không giống các dung môi hữu cơ khác, các axit cacboxylic được sinh ra trong quá trình lên men. Việc sử dụng của các dung môi nội sinh này có nhiều ưu điểm.

Đầu tiên, sự vắng mặt của các phân tử khác các phân tử sinh ra trong quá trình lên men là được đảm bảo: không có dung môi hữu cơ là nguy cơ được tìm thấy trong lượng vết trong sản phẩm cuối cùng.

Với các axit cacboxylic, có thể, không kể các hợp chất khác, phân tách không chỉ là các axit cacboxylic mà còn có các chất chuyển hóa khác như rượu, amin hoặc amino axit, và các hợp chất thơm như các axit phenyl. Ngoài ra, trong bước phân tách lỏng-lỏng, hao hụt dung môi là không thể tránh khỏi. Điều này xảy ra trong quá trình lưu trữ, trong quá trình chưng cất hoặc thậm chí trong quá trình lên men khi dung môi có thể được sử dụng bởi các vi sinh vật. Do đó, việc bổ sung dung môi là cần thiết, nhờ đó phát sinh các chi phí bổ sung và làm hạn chế trong vận chuyển và trong điều kiện môi trường.

Bằng cách sử dụng các dung môi nội sinh cho quá trình lên men kỵ khí, như axit cacboxylic, ít nhất có thể một phần bù lại sự thiếu dung môi.

Hơn nữa, chính các dung môi nội sinh này tránh được các nguy cơ của phản ứng không mong muốn và/hoặc không được kiểm soát bất kỳ và không chỉ là các axit béo dễ bay hơi sinh ra trong quá trình lên men mà còn, cụ thể, các sản phẩm sinh ra từ quá trình lên men.

Cuối cùng, việc sử dụng axit cacboxylic làm dung môi góp phần làm giảm độ pH của pha nước trong quá trình phân tách.

Các axit cacboxylic, sinh ra trong quá trình lên men và được sử dụng làm dung môi, có thể có mặt trong môi trường lên men, ví dụ nhưng không giới hạn, là các axit có 4 đến 9 nguyên tử cacbon.

Trong trường hợp bất kỳ, axit cacboxylic sẽ được chọn sao cho số lượng nguyên tử cacbon lớn hơn hoặc bằng với số lượng nguyên tử cacbon của chất chuyển hóa được phân tách.

Các ví dụ không giới hạn về các axit này sinh ra trong quá trình lên men được

đưa tra trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1, mật độ được đưa ra ở nhiệt độ môi trường khoảng 20°C.

Bảng 1

Axit 2-metylpropanoic hoặc axit isobutiric	$C_4H_8O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,9681	Điểm sôi ở áp suất không khí: 154°C
Axit metyl etyl axetic hoặc axit pentanoic hoặc axit valreic	$C_5H_{10}O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,9339	Điểm sôi ở áp suất không khí: 186°C
Axit hexanoic hoặc axit caproic	$C_6H_{12}O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,9212	Điểm sôi ở áp suất không khí: 205°C
Axit heptanoic	$C_7H_{14}O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,9188	Điểm sôi ở áp suất không khí: 222°C
Axit octanoic hoặc axit caprylic	$C_8H_{16}O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,9106	Điểm sôi ở áp suất không khí: 239°C
Axit nonanoic	$C_9H_{18}O_2$	Mật độ g/cm ³ : 0,900	Điểm sôi ở áp suất không khí: 254°C

Cụ thể hơn, chủ đơn lưu ý rằng, trên cơ sở các thí nghiệm được thực hiện, các axit cacboxylic có từ 6 đến 9 nguyên tử cacbon và, tốt hơn là, có từ 7 đến 9 nguyên tử cacbon, tạo thành dung môi nội sinh được ưu tiên. Nói cách khác, từ các axit cacboxylic được đề cập ở trên, theo phương thức không giới hạn và bằng cách ví dụ, trong bảng 1, chủ đơn đề xuất các axit caproic, heptanoic và octanoic làm dung môi nội sinh. Như là một biến thể, có thể sử dụng các đồng phân của các hợp chất này.

Các phân tử, và do đó, trong trường hợp này là các chất chuyển hóa, tốt hơn là được tách riêng biệt, hoặc ít nhất là được tách trong các họ phân tử, từ pha lỏng của môi trường lên men, nhờ đó cho phép, không kể đến trường hợp khác, thu được hiệu suất tốt hơn và tạo thuận lợi cho năng suất của hợp chất cụ thể từ các phân tử được tách này.

Trong trường hợp bất kỳ, các chất chuyển hóa được tách, ít nhất là một phần, được tách trong các điều kiện sao cho quá trình phân tách không phá hỏng và không ức chế các vi sinh vật M, hoặc ít nhất là được tách theo các tỷ lệ, sao cho về cơ bản

không làm thay đổi quá trình lên men liên tục bởi các vi sinh vật M có mặt trong môi trường lên men. Nói cách khác, dung môi không gây chết tất cả các vi sinh vật. Do đó, quá trình phân tách không bị gián đoạn, hoặc bị làm giảm, trong môi trường lên men hoặc hiệu suất lên men của vi sinh vật M mà chứa trong đó. Do đó, quá trình phân tách được thực hiện trong các điều kiện sao cho có sự tương thích sinh học.

Khi các phân tử như các axit cacboxylic được tách từ môi trường lên men, quá trình axit hóa của môi trường lên men do những axit này trên thực tế được giảm xuống. Do đó, quá trình lên men, và do vậy, năng suất của chất chuyển hóa, liên tục trong các điều kiện tương tự như các điều kiện ban đầu, môi trường lên men duy trì không quá nhiều axit.

Ưu điểm là, chúng tỏ rằng trong trường hợp mà pha rắn còn lại, sau quá trình phân tách, có thể chứa các vi sinh vật M mà đang sống và do đó có khả năng hoạt động. Do, trong pha rắn này, có các axit cacboxylic ít hơn lúc ban đầu, nên độ pH của pha rắn ít axit hơn. Do đó, có thể tiếp tục nạp vào trong bình phản ứng lên men 1. Do đó, không chỉ làm giảm hiện tượng nhiễm axit và/hoặc độ pH của môi trường lên men được duy trì ổn định trong quá trình lên men, bằng quá trình phân tách các hợp chất axit, mà còn, ở mức nhất định, môi trường cũng được tái cấu trúc lại các vi sinh vật M cung cấp cho quá trình lên men, mà không làm giảm đáng kể độ pH của môi trường lên men.

Chính dung dịch này có thể tối ưu hóa hiệu suất của quá trình lên men và thực hiện quá trình lên men liên tục, do đó giảm thời gian lên men, trong khi đồng thời có xu hướng chất thải là 0.

Quá trình phân tách được thực hiện liên tục và tuần tự, ví dụ mỗi lần tách trong khoảng thời gian là 12 giờ. Nói cách khác, có thể tiếp tục quá trình lên men trong khi cùng lúc phân tách các chất chuyển hóa sinh ra, hoặc khi chúng được sinh ra hoặc đều đặn. Khi phân tách, các chất chuyển hóa được tinh chế và/hoặc chuyển thành các sản phẩm khác, như các alkan, alken, amit, amin, este hoặc polyme, bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, chưng cất, tổng hợp, tổng hợp bằng điện, amit hóa hoặc polyme hóa.

Cụ thể hơn, cột phân tách 2 được nạp với quá trình lên men phải ở đỉnh của cột,

theo mũi tên 3. Trong cột 2, dung môi nội sinh, là axit cacboxylic hoặc hỗn hợp của các axit cacboxylic được đưa vào trước. Như được đề cập trước đó, dung môi nội sinh tốt hơn là axit cacboxylic có 7 đến 9 nguyên tử cacbon. Khi diễn ra, lượng được sinh ra từ quá trình lên men thường không đủ để đảm bảo quá trình phân tách của phần lớn các axit cacboxylic khác được sinh ra. Do vậy, cần thiết phải nạp các axit cacboxylic này từ nguồn khác quá trình lên men đang diễn ra. Chúng có thể là, ví dụ, các axit cacboxylic được tách trước đó và được lưu trữ để sử dụng hoặc các axit khác, tốt hơn là, các axit nền sinh học, có nguồn gốc thương mại.

Sự lưu thông ngược hoặc đang khuấy lưu thông, bằng các phương thức đã biết, cho phép các axit cacboxylic tiếp xúc với dung môi. Trong suốt bước thứ nhất, các axit cacboxylic, hoặc ít nhất là một phần của nó, được chuyển vào trong dung môi.

Quá trình lên men phải, trên thực tế sử dụng hết các axit cacboxylic, được thu ở phần phía đáy của cột phân tách 2 và, tốt hơn là, nạp trở lại vào trong bình lên men 1, theo mũi tên 4. Do dung môi cũng là một trong các axit cacboxylic có mặt trong quá trình lên men, nên không có sự nhiễm bẩn có hại cho quá trình lên men đang diễn ra bởi các dung môi sau khi nạp trở lại bình là có thể.

Dung môi, có chứa các axit cacboxylic được thu ở phần đỉnh của cột phân tách 2 và, theo mũi tên 5, di chuyển đến cột phân tách 6. Dung môi và các axit cacboxylic tạo thành ít nhất là một pha hữu cơ mà ít nhất một phần trộn lẫn với nước. Ở đây, cần phải nhớ lại rằng ví dụ được mô tả và minh họa tương ứng theo phương án này có nhiều hơn một, cụ thể là hai, cột chưng cất. Chính phương án này sẽ bắt gặp đối với các thiết bị có kích thước “trung bình”.

Quá trình chưng cất được thực hiện ở các mức nhiệt độ mà có thể thu hồi có chọn lọc các axit cacboxylic của quá trình chưng cất khi điểm sôi thấp hơn điểm sôi của dung môi.

Các axit cacboxylic và nước từ quá trình phân tách được thu hồi, vào giai đoạn cuối của quá trình chưng cất, ở đỉnh của cột 6. Dòng này, theo mũi tên 7, được làm lạnh và dẫn đến bình lắng 8.

Dung môi, mà được thu ở phần đáy của cột 6, nặng hơn các axit cacboxylic

được phân tách. Dung môi được dẫn trở lại, theo mũi tên 9, đến cột phân tách 2. Do đó, dung môi được tái sử dụng, trong khi giảm tối thiểu sự hao hụt và làm giới hạn các điều kiện đối với việc nạp bên ngoài của các dung môi nội sinh.

Ở cuối quá trình lắng, pha nước được thu và dẫn trở lại, theo mũi tên 10, đến cột phân tách 2.

Do đó, các axit cacboxylic thay thế của pha hữu cơ được thu hồi ở phần đáy của bình lắng 8 là hỗn hợp của các axit cacboxylic khác nhau và, có thể có nước theo tỉ lệ, trong một số trường hợp, cần xử lý bổ sung. Nói cách khác, ngoài trừ các thiết bị lớn như các thiết bị trong các nhà máy lọc dầu công nghiệp, cần phải tính toán để tối ưu hóa tỉ lệ hiệu quả/chi phí, để thực hiện, như được minh họa trong Fig.1 đối với quá trình chưng cất bổ sung. Vì điều này, các axit cacboxylic được dẫn, theo mũi tên 11 đến cột chưng cất thứ hai 12. Do đó, dung dịch về cơ bản chỉ chứa pha hữu cơ được nạp vào trong cột chưng cất 12.

Vào cuối quá trình chưng cất thứ 2, các axit cacboxylic được thu ở phần đáy của cột 12, các điểm sôi cao hơn điểm sôi của nước, và theo mũi tên 13, dẫn đi đến bộ phận thu hồi và lưu trữ 14. Tốt hơn là, khi có hai bộ phận chưng cất, có ưu điểm có thể thấy chỉ cần ít nhất là một bộ phận làm lắng. Như là một biến thể, ít nhất là một phần của các axit cacboxylic được thu hồi, tinh sạch hoặc là hỗn hợp được dẫn trực tiếp đến bộ phận có thể tổng hợp các phân tử cuối cùng. Tốt hơn là, nước được thu hồi vào cuối quá trình chưng cất thứ hai theo mũi tên 15, dẫn đến cột phân tách 2. Hơn nữa, như trong phương án minh họa trong Fig.1, đối với các axit cacboxylic chưa được tinh sạch, có thể hình dung ra quy trình phân tách khác, bằng các phương thức bao gồm ít nhất là một quá trình chưng cất, để thu các sản phẩm tinh khiết, hoặc các sản phẩm ít nhất là có thể sử dụng được. Do đó, với mỗi quá trình chưng cất liên tục, mỗi axit có thể được phân tách. Có thể thực hiện các quá trình chưng cất khác nhau này trong bộ phận chưng cất đơn, được đưa ra ở phần sau có đủ thiết kế và kích thước. Thực tế, thường liên quan đến các cột chưng cất có trong các dạng thiết bị lọc dầu công nghiệp.

Tốt hơn là, theo các điều kiện chưng cất, có thể thấy rằng ít nhất là một bộ trao đổi nhiệt 16 để làm mát dung môi. Tốt hơn là, nhiệt thu hồi được sử dụng để làm nóng sơ bộ dung môi dẫn lên phần đỉnh của cột phân tách, trước khi được dẫn vào trong cột

chung cất 6. Theo cách này, có thể giảm đáng kể năng lượng tiêu thụ cần thiết cho quá trình chưng cất thứ nhất. Cần phải hiểu rằng có thể có ít nhất hai bộ chuyển đổi trong các dòng nhiệt khác nhau này, hoặc chỉ cần một bộ chuyển đổi nhiệt.

Theo phương án khác, số lượng và/hoặc các kích thước của các bộ phận khác nhau là khác nhau. Cụ thể, có thể có một số thiết bị được lắp đặt song song.

Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng đã biết đến các bộ phận điều khiển và an toàn thường được sử dụng trong các nhà máy phân tách và/hoặc chưng cất.

Các thí nghiệm đã được thực hiện bởi chủ đơn theo các phương án khác nhau, trong trường hợp phân tách các axit cacboxylic.

Thí nghiệm 1: Quá trình phân tách bằng axit heptanoic.

Các axit cacboxylic sinh ra trong quá trình lên men được thực hiện trong cơ chất chứa các phần chất thải sinh hoạt có thể lên men ở nồng độ 50 g/l của chất khô (dry matter: DM). 50 ml môi trường, do đó pha lỏng được thu hồi. Độ pH của mẫu này là 4,3. 50 ml môi trường này sau đó được phân tách bằng axit heptanoic với tỉ lệ thể tích là 1:1. Hiệu suất quá trình phân tách thu được là 37%.

Chủ đơn lưu ý rằng, trong các điều kiện thí nghiệm giống nhau, thu được hiệu suất giống nhau khi thay thế axit heptanoic bằng axit octanoic.

Các thí nghiệm lên men so sánh cũng được chủ đơn thực hiện, theo các phương án khác nhau, để đánh giá hiệu quả của quá trình phân tách các dung môi hiện tại trong môi trường lên men theo hiệu suất quá trình lên men.

Thí nghiệm 2: So sánh các quá trình lên men khi có mặt hoặc vắng mặt của axit heptanoic.

Hai quá trình lên men của bộ/cỗ theo phương thức chưa được vô khuẩn, ở nồng độ là 25 g/l của chất khô, trong bình phản ứng sinh học kỵ khí có thể tích hoạt động là 2L, hoạt động ở nhiệt độ trung bình (38°C), được thực hiện song song trong 160 giờ. Trong thí nghiệm thứ nhất, sau khi ủ ấm hỗn hợp vi khuẩn kỵ khí tối ưu, thực hiện bổ sung axit heptanoic ban đầu với lượng là 2,8 g/l. Sự có mặt của axit heptanoic có thể hiểu rằng bản chất tương thích sinh học của quá trình phân tách được thực hiện

theo dạng của dung môi này. Thực vậy, môi trường nuôi cấy sau quá trình phân tách được nạp trở lại vào trong bình phản ứng sinh học và có thể chứa dấu vết của dung môi phân tách đến lượng ngưỡng có thể hòa tan. Quá trình lên men, mà thực tế là nuôi cấy đối chứng, được thực hiện song song trong các điều kiện tương tự ngoài trừ việc bổ sung axit heptanoic.

Trong suốt quá trình lên men, thực hiện việc giám sát chất chuyển hóa của pha lỏng và pha khí. Vào cuối quá trình lên men, hiệu suất thu được liên quan đến năng suất của các axit béo dễ bay hơi là 0,33 g của VFG/g của chất khô trong trường hợp của thí nghiệm bổ sung axit heptanoic, và 0,39 g của VFA/g của chất khô của quá trình lên men của đối chứng. Do đó, cần phải lưu ý rằng sự có mặt của dung môi cảm ứng có tác động tiêu cực rất nhỏ, khoảng 15%, đối với năng suất của các axit béo dễ bay hơi, trong khi đồng thời duy trì hiệu suất trên 30%, mà trong chính nó cùng với giá trị có thể chấp nhận theo hiệu suất.

Sự có mặt của axit heptanoic trong bình phản ứng sinh học tạo ra trạng thái trao đổi giống nhau như là quá trình tích tụ liên tục của các axit béo dễ bay hơi trong môi trường lên men. Giảm nồng độ ban đầu của axit cacboxylic hoặc chọn axit cacboxylic làm dung môi có độ tan thấp hơn độ tan của axit cacboxylic trong môi trường nuôi cấy sẽ có thể đạt được các hiệu suất bằng với hiệu suất thu được trong môi trường đối chứng.

Để chuẩn dung dịch này, chủ đơn thực hiện các thí nghiệm sau.

Thí nghiệm 3: So sánh quá trình lên men khi có mặt hoặc vắng mặt của axit octanoic.

Thí nghiệm 2 được tái thực hiện với các điều kiện nuôi cấy giống trước, nhưng sử dụng 50 g/l của chất khô của chất thải phục hồi và trước thời điểm này so với các hiệu suất bổ sung ban đầu là 0,7 g/l của axit octanoic so với thí nghiệm lên men đối chứng mà không chứa bất kỳ axit octanoic.

Vào cuối quá trình lên men, hiệu suất 0,3 g của VFA/g của chất khô thu được trong trường hợp của môi trường có axit octanoic, và 0,31g của VFA/g của chất khô liên quan đến môi trường đối chứng.

Do đó, các hiệu suất là tương đương và người ta kết luận rằng sự có mặt của

axit octanoic, ở độ hòa tan tối đa của nó, không làm gián đoạn quá trình lên men.

Việc thực hiện của chính quá trình này liên quan không chỉ có trong các thiết bị bao gồm ít nhất là một bình phản ứng lên men 1 mà còn cả sự có mặt của ít nhất là một cột phân tách 2, và ít nhất là một, tốt hơn là hai, cột chưng cất 6 và 12, và còn có ít nhất là một bình lắng 8 và, theo phương án ưu tiên, ít nhất là một bộ trao đổi nhiệt 16. Các bộ phận này đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật trước, các thành phần và kích thước của chúng được điều chỉnh theo dạng sản xuất.

Tốt hơn là thiết bị này còn bao gồm ít nhất là một bộ phận để lưu trữ các sản phẩm sinh ra trong quá trình phân tách. Các phương thức quản lý và kiểm soát, như các cảm biến nhiệt độ, đầu dò pH và/hoặc đầu dò quá trình oxy hóa-khử. Ngoài ra, hoạt động của các vi sinh vật được giám sát bằng các phương thức theo các phương pháp đã biết, ví dụ, bằng cách giám sát phân tích năng suất của khí và các chất chuyển hóa lỏng, đếm bằng phân tích và đo đặc tế bào theo dòng chảy, các kỹ thuật sinh học phân tử như dấu phân tử hoặc chip sinh học.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp phân tách trực tiếp các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon, được tạo ra bởi hỗn hợp các vi sinh vật nhân sơ và nhân thực trong bình phản ứng lên men bằng quá trình lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men chưa được xử lý, quá trình phân tách này có dạng lỏng-lỏng, mà không làm giảm đáng kể pH của môi trường lên men, phương pháp này bao gồm các bước sau:

a) bắt đầu quá trình phân tách khi sự sản sinh của các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon đạt đến lượng định trước trong bình phản ứng lên men, lượng định trước này tương ứng với sự suy giảm sinh trưởng của các vi sinh vật nhân sơ và nhân thực trong bình phản ứng lên men, sự suy giảm sinh trưởng này nằm ở vùng ngưỡng ức chế vi sinh vật liên quan đến quá trình axit hóa của môi trường lên men,

b) chọn dung môi phân tách nội sinh trong số các axit cacboxylic có ít nhất 4 nguyên tử cacbon sinh ra trong quá trình lên men kỵ khí, sao cho số lượng cacbon của dung môi phân tách nội sinh lớn hơn hoặc bằng số lượng cacbon của các axit cacboxylic được phân tách, trong đó dung môi phân tách nội sinh có tỷ trọng thấp hơn tỷ trọng của nước và điểm sôi là trên 70°C trong các điều kiện áp suất thông thường,

c) cho dung môi phân tách nội sinh tiếp xúc với một phần môi trường lên men từ bình phản ứng lên men chứa ít nhất các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon bên ngoài bình phản ứng lên men, mà không làm gián đoạn quá trình lên men bên trong bình phản ứng lên men,

d) phân tách trực tiếp các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon từ môi trường lên men thông qua sự tiếp xúc với dung môi phân tách nội sinh trong các điều kiện không gây chết đối với các vi sinh vật nhân sơ và nhân thực,

e) phân tách các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon từ dung môi phân tách nội sinh, thu được sau khi phân tách dạng lỏng-lỏng ở bước d), thông qua ít nhất một quá trình chưng cất,

f) thu và lưu trữ hoặc sử dụng các axit cacboxylic có từ 1 đến 9 nguyên tử cacbon thu được trong bước e), trong đó việc phân tách trực tiếp các axit cacboxylic trong bước d) làm giảm quá trình axit hóa của môi trường lên men trong quá trình lên

men kỵ khí, giúp duy trì hoạt động của các vi sinh vật nhân sơ và nhân thực trong bình phản ứng lên men để tiếp tục quá trình lên men kỵ khí.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó, sau bước e) và trước bước f), các axit cacboxylic được phân tách bằng quá trình chưng cất trong bước bổ sung g), từ nước của pha hữu cơ thu được trong bước e).
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung môi phân tách là axit cacboxylic có từ 4 đến 9 nguyên tử cacbon
4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó dung môi phân tách là axit cacboxylic có từ 7 đến 8 nguyên tử cacbon.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung môi phân tách được chọn từ axit heptanoic, axit octanoic hoặc axit nonanoic
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước gạn lọc h), giữa bước e) và bước f), cho phép sự phân tách thứ nhất giữ pha hữu cơ và pha nước.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó, trong quá trình cho môi trường lên men tiếp xúc với dung môi phân tách bên ngoài bình phản ứng, môi trường lên men được thực hiện liên tục.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó, trong quá trình cho môi trường lên men tiếp xúc với dung môi phân tách bên ngoài bình phản ứng, môi trường lên men được thực hiện tuần tự.
9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó, sau bước e), ít nhất một phần của pha lỏng còn lại từ quá trình phân tách, chứa các vi sinh vật hoạt động, được đưa trở lại vào trong bình phản ứng lên men và kết hợp vào trong môi trường lên men mà không làm giảm đáng kể pH của môi trường lên men.

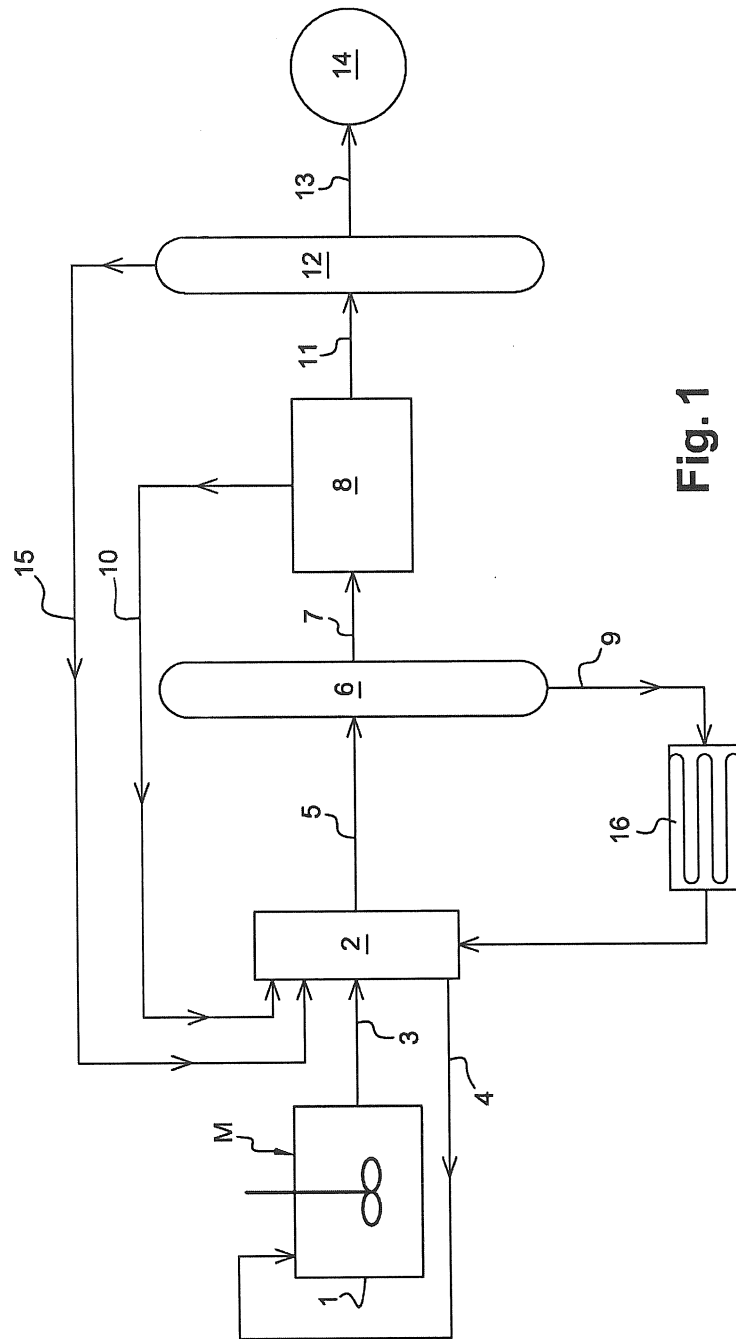


Fig. 1