



(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)



1-0038329

(51)^{2019.01} C12P 3/00; C01B 25/234; C12N 9/10

(13) B

(21) 1-2020-00483

(22) 12/07/2018

(86) PCT/KR2018/007915 12/07/2018

(87) WO2019/013570 17/01/2019

(30) 10-2017-0089121 13/07/2017 KR

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/06/2020 387

(73) CJ CheilJedang Corporation (KR)

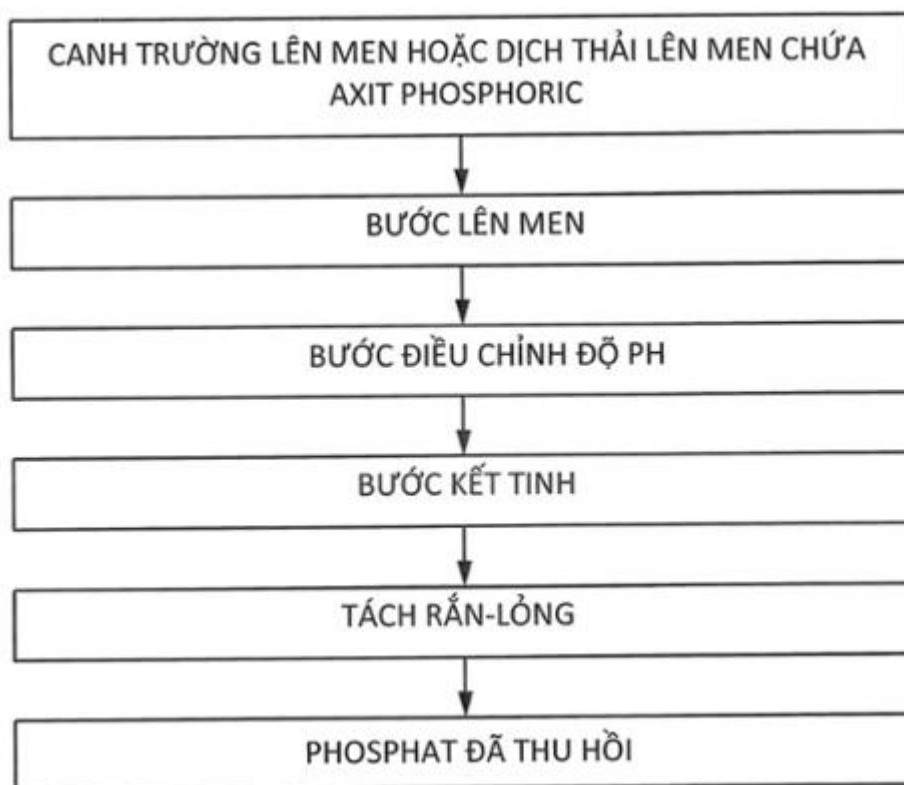
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul, 04560, Republic of Korea

(72) KIM, Jun-Woo (KR); KIM, Jaeik (KR); KIM, Il Chul (KR); LEE, In Sung (KR);
KANG, Seung Hoon (KR); KIM, Min Sup (KR); LEE, Kang Hoon (KR); LEE,
Seung-je (KR); LEE, Chungkwon (KR); JUNG, Jun Young (KR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PHƯƠNG PHÁP THU HỒI AXIT PHOSPHORIC TỪ CANH TRƯỜNG LÊN MEN
HOẶC DỊCH THẢI LÊN MEN VÀ TÁI SỬ DỤNG NÓ

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải của nó và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi trong quá trình lên men.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải của nó và phương pháp tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi trong quá trình lên men.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong một số trường hợp, axit phosphoric về cơ bản là cần thiết để tạo ra một chất mục tiêu bằng cách lên men. Ví dụ, Công bố đơn xin cấp patent quốc tế số WO2014/182125 tiết lộ rằng nguồn axit phosphoric có thể được cung cấp cho quá trình lên men của O-phosphoserin là tiền chất được sử dụng để tạo ra L-xystein. Hơn nữa, Công bố đơn xin cấp patent quốc tế số WO 2014/064244 tiết lộ phương pháp sản xuất methionin từ O-phosphohomoserin bằng cách sử dụng sulfua và enzyme chuyển hóa. Dựa vào đó, có thể khẳng định rằng phosphat rất cần thiết như là nguồn phospho để tạo ra O-phosphohomoserin, tiền chất của methionin, bằng cách lên men. Do đó, cần phải phát triển một phương pháp thu hồi axit phosphoric dư từ canh trường lên men hoặc dịch thải lỏng của nó chứa một lượng lớn phosphat và tái sử dụng axit phosphoric thu hồi làm nguồn phospho.

Các quy trình thu hồi axit phosphoric thông thường thường được thực hiện bằng cách phân lập axit phosphoric từ vật liệu đá có chứa axit phosphoric bằng quy trình chiết dung môi hữu cơ, và thu hồi axit phosphoric thông qua quy trình trung hòa bằng muối canxi, muối amoni, muối kali, natri muối, hoặc các muối tương tự khác (US3375068, US3466141A, US4543239, EP0087323A1, US7687046 và US8658117). Tuy nhiên, quá trình chiết dung môi hữu cơ không hiệu quả về mặt kinh tế do chi phí xử lý tăng bằng cách sử dụng dung môi và rất phức tạp do quy trình thu hồi dung môi

cần phải được thực hiện bổ sung. Hơn nữa, một dung môi hữu cơ có sẵn có thể đóng vai trò làm một chất độc trong quá trình lên men ngay cả với một lượng nhỏ, và do đó rất khó áp dụng dung môi hữu cơ vào quá trình lên men. Trong khi đó, một quá trình thu hồi hoặc tạo ra axit phosphoric từ dịch thải của quá trình lên men thay vì từ vật liệu đá chứa axit phosphoric bằng phương pháp mà không sử dụng dung môi hữu cơ chưa được báo cáo trong các tài liệu patent hoặc tài liệu tham khảo.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

VẤN ĐỀ KỸ THUẬT

Các Tác giả sáng chế đã nỗ lực hết sức để phát triển phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men, và kết quả là đã phát hiện ra rằng phosphat có thể được thu hồi từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men mà không cần sử dụng dung môi hữu cơ và bằng cách tái sử dụng phosphat thu hồi trong quá trình lên men, một sản phẩm lên men có thể thu được với một lượng tương tự như thu được bằng cách sử dụng axit phosphoric tinh khiết, do đó hoàn thành sáng chế này.

GIẢI PHÁP KỸ THUẬT

Mục đích của sáng chế là tạo ra phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng chúng.

Mục đích khác của sáng chế là tạo ra phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men O-phosphoserin (OPS); hoặc dịch thải lên men trong đó cysteine hoặc dẫn xuất của nó được loại bỏ và tái sử dụng chúng.

Mục đích khác của sáng chế là tạo ra phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men O-phosphohomoserin (OPHS); hoặc dịch thải lên men trong đó methionine hoặc dẫn xuất của nó được loại bỏ và tái sử dụng chúng.

Mục đích khác của sáng chế là tạo ra phương pháp thu hồi axit phosphoric từ dịch thải lên men chứa axit phosphoric.

TÁC DỤNG CÓ LỢI CỦA SÁNG CHẾ

Trong trường hợp axit phosphoric được thu hồi từ quá trình lên men, không phải từ vật liệu đá, phương pháp thu hồi axit phosphoric bằng phương pháp khác với phương pháp chiết bằng dung môi hữu cơ, và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này trong quy trình lên men đã được xác định đối với lần đầu tiên theo sáng chế. Theo phương pháp thu hồi axit phosphoric từ môi trường lên men và việc tái sử dụng chúng theo sáng chế, axit phosphoric có thể thu hồi được từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men mà không cần sử dụng dung môi hữu cơ và được tái sử dụng trong quy trình lên men. Do đó, các vấn đề gây ra do sử dụng dung môi hữu cơ, như hoạt động như một chất độc trong quá trình lên men, chi phí phát sinh thêm khi sử dụng dung môi, và làm phức tạp quá trình do bổ sung quy trình thu hồi dung môi, do đó, có thể được khắc phục, và do đó, phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả trong quá trình lên men.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 trình bày ngắn gọn quy trình thu hồi phosphat từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men chứa axit phosphoric.

FIG. 2 trình bày ngắn gọn quy trình thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men mà thu được nhờ sử dụng phản ứng chuyển hóa enzym trong canh trường lên men O-phosphoserin (OPS) hoặc O-phosphohomoserin (OPHS); hoặc từ dịch thải lên men mà thu được bằng cách loại bỏ cysteine, dẫn xuất cysteine, methionin, hoặc dẫn xuất methionin từ canh trường lên men; và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này trong quá trình lên men O-phosphoserin hoặc O-phosphohomoserin.

FIG. 3 trình bày ngắn gọn quy trình thu hồi axit phosphoric qua quy trình hai bước từ canh trường lên men mà thu được nhờ sử dụng phản ứng chuyển hóa enzym trong canh trường lên men O-phosphoserin (OPS) hoặc O-phosphohomoserin (OPHS); hoặc từ dịch thải lên men mà thu được bằng cách loại bỏ cysteine, dẫn xuất cysteine, methionin, hoặc dẫn xuất methionin từ canh trường lên men; và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này trong quá trình lên men O-phosphoserin hoặc O-

phosphohomoserin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để đạt được mục đích của sáng chế, một khía cạnh của sáng chế đề xuất phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) cô canh trường lên men hoặc dịch thải lên men chứa axit phosphoric (bước cô);

(b) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(c) kết tinh phosphat in dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(d) bằng cách sử dụng phosphat đã được kết tinh trong môi trường lên men làm nguồn axit phosphoric (bước tái sử dụng).

Theo sáng chế, canh trường lên men của bước (a) (bước cô) có thể là để chỉ môi trường thu được bằng cách nuôi cấy vi sinh vật mà tạo ra sản phẩm lên men trong môi trường chứa axit phosphoric; môi trường nuôi cấy chứa vi sinh vật được nuôi cấy cùng với môi trường; hoặc dung dịch chuyển hóa enzym của nó.

Loại 'sản phẩm lên men' là không bị giới hạn miễn sao canh trường lên men bao gồm axit phosphoric, nhưng đặc biệt là, có thể là chất đích, dẫn xuất hoặc tiền được chất của nó, mà được tạo ra nhờ lên men. Ngoài ra, chất đích có thể là axit amin như xystein hoặc methionin, mà không bị giới hạn ở những chất này. Ngoài ra, dẫn xuất của chất đích có thể là dẫn xuất của axit amin, đặc biệt là, dẫn xuất của xystein hoặc methionin. Cụ thể hơn, dẫn xuất của xystein có thể bao gồm ít nhất một được chọn từ nhóm bao gồm *N*-axetyl-xystein, xystin, phức kim loại-xystein (ví dụ, phức kẽm-xystein, phức mangan-xystein, phức sắt-xystein, phức đồng-xystein, và magie-

xystein complex) và muối xystein (ví dụ: xystein hydroclorua), mà không bị giới hạn ở những chất này. Dẫn xuất của methionin có thể bao gồm ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm *N*-axetyl-methionin, phức kim loại-methionin (ví dụ, phức kẽm-methionin, phức mangan-methionin complex, phức sắt-methionin, phức đồng-methionin, và phức magie-methionin), và muối methionin salt, mà không bị giới hạn ở những chất này. Ngoài ra, tiền chất của chất đích có thể là tiền chất của axit amin, đặc biệt là, tiền chất của xystein hoặc methionin. Cụ thể hơn, tiền chất có thể là O-phosphoserin (OPS) hoặc O-phosphohomoserin (OPHS), mà không bị giới hạn ở những chất này.

Ngoài ra, “canh trường lên men” có thể chứa (a) canh trường lên men của chất đích hoặc tiền chất hoặc dẫn xuất của chúng bao gồm axit phosphoric, (b) canh trường lên men bao gồm một chất đích hoặc dẫn xuất của chúng, được tạo ra bởi một chủng tạo ra tiền chất của chất đích, chất nền và enzym chuyển hóa; và axit phosphoric, hoặc (c) canh trường lên men bao gồm một chất đích hoặc dẫn xuất của chúng, được tạo ra bằng cách thêm một enzyme chuyển hóa hoặc một vi sinh vật biểu hiện enzym chuyển hóa; và một chất nền cho canh trường lên men của tiền chất của chất đích; và axit phosphoric, mà không bị giới hạn ở các chất này.

Cụ thể hơn, canh trường lên men có thể là (i) canh trường lên men O-phosphoserin chứa axit phosphoric, (ii) canh trường lên men O-phosphohomoserin chứa axit phosphoric, hoặc (iii) canh trường lên men chứa axit amin hoặc dẫn xuất của nó, được điều chế bằng cách thêm enzym chuyển hóa hoặc vi sinh vật biểu hiện giống thế; và sulfua vào canh trường lên men; và axit phosphoric. Ngoài ra, canh trường lên men (iii) có thể là đặc biệt là canh trường lên men chứa xystein hoặc dẫn xuất của nó, được điều chế bằng cách thêm O-phosphoserin sulfhydrylaza (OPSS) hoặc vi sinh vật biểu hiện giống thế; và sulfua vào canh trường lên men O-phosphoserin; và axit phosphoric. Ngoài ra, canh trường lên men (iii) có thể là canh trường lên men chứa methionin hoặc dẫn xuất của nó, được điều chế bằng cách thêm methionin syntaza phụ thuộc O-Phospho-homoserin (phụ thuộc OPHS) hoặc vi sinh vật biểu hiện giống thế; và sulfua vào canh trường lên men O-phosphohomoserin; và axit phosphoric.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ 'dịch thải lên men' có thể là dung dịch thu được bằng cách tách một phần hoặc toàn bộ và loại bỏ sản phẩm lên men khỏi canh trường lên men, mà không bị giới hạn ở đó. Cụ thể, dịch thải lên men có thể là dung dịch thu được bằng cách tách một phần hoặc toàn bộ một loại axit amin hoặc dẫn xuất hoặc tiền chất của chúng ra khỏi canh trường lên men bao gồm axit amin hoặc các dẫn xuất hoặc tiền chất của chúng và axit phosphoric, mà không bị giới hạn ở đó. Ví dụ, dịch thải lên men có thể là dung dịch thu được bằng cách tách một phần hoặc toàn bộ một loại axit amin hoặc các dẫn xuất của chúng từ canh trường lên men bao gồm axit amin và các dẫn xuất của chúng và axit phosphoric hoặc dung dịch thu được bằng cách tách và loại bỏ một phần hoặc toàn bộ một axit amin hoặc các dẫn xuất của chúng từ một môi trường lên men bao gồm axit amin hoặc các dẫn xuất của chúng, được tạo ra bằng cách thêm một chất nền và enzym chuyển hóa, hoặc một vi sinh vật sản xuất enzym chuyển hóa thành canh trường lên men của tiền chất của axit amin và axit phosphoric. Cụ thể hơn, dịch thải lên men có thể là dung dịch thu được bằng cách tách và loại bỏ một phần hoặc toàn bộ cystein hoặc các dẫn xuất của chúng, được điều chế bằng cách thêm O-phosphoserin sulfhydrylaza (OPSS) hoặc một vi sinh vật biểu hiện giống thế; và một sunfua vào canh trường lên men O-phosphoserin, từ canh trường lên men chứa cystein hoặc các dẫn xuất của nó; và axit phosphoric, hoặc dung dịch thu được bằng cách tách một phần hoặc toàn bộ và loại bỏ methionin hoặc dẫn xuất của nó, được điều chế bằng cách thêm methionin syntaza phụ thuộc OPHS hoặc vi sinh vật biểu hiện giống thế; và sunfua vào canh trường lên men O-phosphohomoserin, từ canh trường lên men chứa methionin hoặc dẫn xuất của nó, và axit phosphoric, mà không bị giới hạn ở những chất này.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ 'cô' là bước cô có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết bất kỳ mà không bị giới hạn miễn sao nồng độ của phosphat ion chứa trong canh trường lên men hoặc dịch thải lên men là được tăng lên nhờ phương pháp. Đặc biệt là, bước cô có thể được thực hiện bằng cách làm bay hơi, đun nóng, giảm áp, thông gió, làm lạnh, hoặc các phương pháp tương tự khác, mà không bị giới hạn ở những phương pháp này.

Theo sáng chế, bước cô được thực hiện để tăng tốc độ thu hồi axit phosphoric,

và canh trường lên men hoặc dịch thải lên men có thể được cô trong bước cô sao cho nồng độ của phosphat ion chứa trong dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh có thể là 60g/lít hoặc lớn hơn hoặc 70g/lít hoặc lớn hơn, và cụ thể hơn nữa là, nằm trong khoảng từ 60g/lít đến 300g/lít hoặc 70g/lít đến 250g/lít, mà không bị giới hạn ở những chất này.

Ngoài ra, theo sáng chế, trước bước cô, độ pH của canh trường lên men hoặc dịch thải lên men có thể được điều chỉnh. Đặc biệt là, độ pH của canh trường lên men hoặc dịch thải lên men có thể được điều chỉnh đến 7 hoặc lớn hơn, 7,5 hoặc lớn hơn, 8 hoặc lớn hơn, 8,5 hoặc lớn hơn, hoặc 9 hoặc lớn hơn, cụ thể hơn nữa là, nằm trong khoảng từ 8 đến 11. Bằng cách điều chỉnh độ pH trước bước cô, lượng tạp chất amoni ion chứa trong phosphat đã thu hồi có thể được giảm xuống.

Theo sáng chế, bước (b) (bước điều chỉnh độ pH) là bước điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc trước kết tinh phosphat. Độ pH của dịch cô đặc là không bị giới hạn miễn sao phosphat được kết tinh ở độ pH, nhưng có thể được điều chỉnh nằm trong khoảng mức trung tính và mức kiềm, đặc biệt là, đến 7 hoặc lớn hơn, 7,5 hoặc lớn hơn, 8 hoặc lớn hơn, 8,5 hoặc lớn hơn, hoặc 9 hoặc lớn hơn, cụ thể hơn, nằm trong khoảng từ 8 đến 11.

Ngoài ra, theo sáng chế, bước điều chỉnh độ pH có thể được thực hiện bằng cách thêm chất kiềm, đặc biệt là hydroxit, vào dịch cô đặc. Đặc biệt là, hydroxit có thể là natri hydroxit hoặc dung dịch nước chứa natri hydroxit, mà không bị giới hạn ở những chất này.

Theo sáng chế, bước (c) (bước kết tinh) là bước thu hồi phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh, chất này thu được trong bước điều chỉnh độ pH. Theo sáng chế, việc thu hồi phosphat được thực hiện bằng cách kết tinh phosphat trong dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và việc tách các tinh thể đã được tạo ra từ nước cái mà không sử dụng dung môi hữu cơ.

Để kết tinh phosphat, nhiệt độ có thể được điều chỉnh và/hoặc các nhân tinh thể có thể được thêm vào đó, mà không bị giới hạn ở những chất này. Đặc biệt là, để

kết tinh phosphat, bước làm lạnh dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh có thể được thực hiện tiếp giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh; hoặc trong bước kết tinh. Cụ thể hơn, dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh có thể được để yên ở nhiệt độ trong phòng, dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh có thể được làm lạnh trước bước kết tinh, hoặc dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh có thể được làm lạnh trong bước kết tinh, mà không bị giới hạn ở những bước này. Trong khi đó, mặc dù tỷ lệ thu hồi axit phosphoric có thể bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ làm lạnh, nhiệt độ làm lạnh là không bị giới hạn miễn sao các tinh thể phosphat được tạo thành. Đặc biệt là, bước làm lạnh nhiệt độ có thể là 50°C hoặc nhỏ hơn, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 0°C đến 30°C, cụ thể hơn nằm trong khoảng từ 10°C đến 20°C, mà không bị giới hạn ở những chất này.

Ngoài ra, đặc biệt là, để kết tinh phosphat, bước thêm các tinh thể phosphat làm nhân tinh thể còn có thể được thực hiện giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh hoặc trong bước kết tinh, mà không bị giới hạn ở những bước này.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ 'phosphat' có thể là để chỉ muối của axit phosphoric hoặc hydrat của nó, nhưng loại muối là không bị giới hạn miễn sao axit phosphoric có thể được thu hồi bằng cách kết tinh. Cụ thể, phosphat có thể bao gồm ít nhất một được chọn từ trinatri phosphat, dinatri hydro phosphat, natri dihydro phosphat, và hydrat của nó, cụ thể hơn, dinatri hydro phosphat hoặc hydrat của nó, mà không bị giới hạn ở những chất này. Số phân tử nước liên kết với hydrat là không bị giới hạn miễn sao hydrat của phosphat được kết tinh, nhưng có thể là, đặc biệt là, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, hoặc 13 hoặc lớn hơn. Ngoài ra, hydrat có thể là đặc biệt là, dinatri hydro phosphat heptahydrat hoặc dinatri hydro phosphat dodecahydrat, mà không bị giới hạn ở những chất này.

Theo sáng chế, thuật ngữ axit phosphoric và phosphat có thể có thể được sử dụng thay thế cho nhau.

Theo sáng chế, phương pháp bất kỳ cho phép tách chất lỏng rắn có thể được sử dụng để tách các tinh thể phosphat được tạo ra mà không giới hạn, cụ thể là ly tâm,

ép lọc, lọc nén, lọc chân không quay, tách màng hoặc loại tương tự khác có thể được sử dụng mà không bị giới hạn ở những phương pháp này.

Theo sáng chế, nước cái là để chỉ dung dịch thu được bằng cách tách và loại bỏ tinh thể phosphat được tạo thành từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và có thể chứa các ion phospho chưa kết tinh, mà không bị giới hạn ở đây.

Để làm tăng tỷ lệ thu hồi axit phosphoric, phương pháp theo sáng chế còn có thể bao gồm bước kết tinh thứ hai là bước tái kết tinh phosphat từ nước cái. Theo sáng chế, tỷ lệ thu hồi axit phosphoric cao có thể thu được bằng cách thêm tinh thể phosphat thu được trong bước kết tinh thứ hai (phosphat thu hồi được lần hai) vào tinh thể phosphat thu được trong bước kết tinh lần đầu (phosphat thu hồi được lần đầu). Đặc biệt là, bước kết tinh thứ hai có thể bao gồm (i) cô nước cái (bước cô lại), (ii) điều chỉnh độ pH của nước cái (bước tái điều chỉnh độ pH), và (iii) kết tinh phosphat trong nước cái có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ đó (bước tái kết tinh). Các bước (i) đến (iii) có thể được thực hiện theo cách tương tự như bước cô, bước điều chỉnh độ pH, và bước kết tinh được mô tả ở trên. Đặc biệt là, độ pH của nước cái có thể được điều chỉnh đến 7 hoặc lớn hơn, 7,5 hoặc lớn hơn, 8 hoặc lớn hơn, 8,5 hoặc lớn hơn, hoặc 9 hoặc lớn hơn, cụ thể hơn, nằm trong khoảng từ 8 đến 11.

Ngoài ra, đặc biệt là, bước kết tinh thứ hai còn có thể bao gồm bước thêm tinh thể phosphat, làm nhân tinh thể, đến nước cái, ví dụ, giữa bước tái điều chỉnh độ pH và bước tái kết tinh hoặc trong bước tái kết tinh, mà không bị giới hạn ở những bước này.

Ngoài ra, theo sáng chế, bước kết tinh có thể được thực hiện nhiều hơn hai lần để làm tăng tỷ lệ thu hồi axit phosphoric.

Phương pháp theo sáng chế còn có thể bao gồm bước thêm rượu trong bước điều chỉnh độ pH; hoặc giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh. Do độ hòa tan thấp của phosphat trong rượu, khi được trộn với dung dịch phosphat, rượu sẽ làm giảm độ hòa tan của phosphat trong dung dịch, nhờ đó làm tăng tỷ lệ thu hồi axit phosphoric. Rượu là không bị giới hạn miễn sao tỷ lệ thu hồi axit phosphoric được tăng lên nhờ đó, nhưng có thể đặc biệt là metanol, etanol, propanol, butanol, hoặc hỗn

hợp bất kỳ của nó.

Theo sáng chế, bước (d) (bước tái sử dụng) là bước sử dụng tinh thể phosphat thu hồi được từ bước kết tinh là nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho trong các môi trường lên men khác nhau đòi hỏi nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho. Môi trường lên men theo sáng chế là không bị giới hạn miễn sao môi trường được sử dụng trong quá trình lên men đòi hỏi nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho, nhưng có thể đặc biệt là, môi trường lên men được sử dụng trong việc tạo ra *O*-phosphoserin hoặc *O*-phosphohomoserin.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) tạo ra *O*-phosphoserin (OPS) bằng cách sử dụng vi sinh vật trong môi trường lên men chứa axit phosphoric (bước lên men OPS);

(b) điều chế canh trường lên men chứa xystein hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho phản ứng *O*-phosphoserin được tạo ra trong bước (a) với sulfua với sự có mặt của *O*-phosphoserin sulfhydrylaza (OPSS) hoặc vi sinh vật biểu hiện OPSS (bước chuyển hóa);

(c) cô canh trường lên men; hoặc dịch thải lên men thu được bằng cách loại bỏ xystein hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men (bước cô);

(d) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(e) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(f) sử dụng phosphat đã được kết tinh trong môi trường lên men làm nguồn axit phosphoric (bước tái sử dụng).

Theo sáng chế, bước (a) (bước lên men OPS) là bước tạo ra *O*-phosphoserin bằng cách sử dụng môi trường lên men chứa axit phosphoric và vi sinh vật. *O*-phosphoserin là một este của serin và axit phosphoric, và axit phosphoric được cần đến để tạo ra *O*-phosphoserin. Ngoài ra, vi sinh vật có thể là vi sinh vật đã biết bất kỳ có khả năng tạo ra *O*-phosphoserin, và ví dụ về vi sinh vật có thể là, nhưng không bị giới hạn ở, vi sinh vật có hoạt tính biểu hiện *O*-phosphoserin gia tăng (Công bố đơn quốc tế số WO 2014/182125 và WO 2014/182119). Ngoài ra, ví dụ về vi sinh vật có khả năng tạo ra *O*-phosphoserin cao, có thể là vi sinh vật có hoạt tính phosphoserin phosphatase (SerB) nội sinh giảm và/hoặc hoạt tính phosphoglycerate dehydrogenase (SerA) và/hoặc phosphoserine aminotransferase (SerC) tăng (Công bố đơn quốc tế số WO 2012/053794), mà không bị giới hạn ở những loại này.

Theo sáng chế, bước (b) (bước chuyển hóa) là bước chuyển hóa *O*-phosphoserin, thu được trong bước lên men OPS, thành cysteine hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho *O*-phosphoserin phản ứng với sulfua dưới tác động xúc tác của *O*-phosphoserine sulfhydrylase.

Theo sáng chế, phản ứng chuyển hóa còn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng vi sinh vật biểu hiện *O*-phosphoserine sulfhydrylase, cũng như enzym. Enzym và vi sinh vật biểu hiện enzym có thể thu được bằng phương tiện và phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Đặc biệt là, enzym, *O*-phosphoserine sulfhydrylase có thể là enzym đã biết bất kỳ được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 2013/089478, WO 2012/053794, và WO 2012/053777, mà không bị giới hạn ở những loại này.

Ngoài ra, theo sáng chế, sulfua là không bị giới hạn miễn sao sulfua phản ứng với *O*-phosphoserin dưới tác động xúc tác của *O*-phosphoserine sulfhydrylase, nhưng có thể là ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm CH_3SH , Na_2S , NaSH , $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, H_2S , và $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Theo sáng chế, các bước (c) đến (e) là giống như bước cô, bước điều chỉnh độ pH, và bước kết tinh được mô tả ở trên.

Theo sáng chế, bước (f) (bước tái sử dụng) là bước sử dụng tinh thể phosphat

thu hồi được từ bước kết tinh trong môi trường lên men đòi hỏi nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho làm nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho. Đặc biệt là, môi trường lên men có thể là môi trường lên men bất kỳ được sử dụng để tạo ra *O*-phosphoserin, mà không bị giới hạn ở những loại này.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp bao gồm:

(a) tạo ra *O*-phosphohomoserin (OPHS) bằng cách sử dụng vi sinh vật trong môi trường lên men chứa axit phosphoric (bước lên men OPHS);

(b) điều chế canh trường lên men chứa methionin hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho *O*-phosphohomoserin được tạo ra trong bước (a) phản ứng với sulfua với sự có mặt của methionin syntaza phụ thuộc *O*-phosphohomoserin hoặc vi sinh vật biểu hiện methionin syntaza phụ thuộc *O*-phosphohomoserin (bước chuyển hóa);

(c) cô canh trường lên men; hoặc dịch thải lên men thu được bằng cách loại bỏ methionin hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men (bước cô);

(d) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(e) kết tinh phosphat trong dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(f) sử dụng phosphat đã được kết tinh làm nguồn axit phosphoric trong môi trường lên men (bước tái sử dụng).

Theo sáng chế, bước (a) (bước lên men OPHS) là bước tạo ra *O*-phosphohomoserin bằng cách sử dụng môi trường lên men chứa axit phosphoric và vi sinh vật. *O*-phosphohomoserin là este của threonin và axit phosphoric, và axit phosphoric được cần đến để tạo ra *O*-phosphohomoserin. Ngoài ra, vi sinh vật có thể là vi sinh vật đã biết bất kỳ có khả năng tạo ra *O*-phosphohomoserin.

Theo sáng chế, bước (b) (bước chuyển hóa) là bước chuyển hóa *O*-phosphohomoserin thành methionin hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho *O*-phosphohomoserin thu được từ bước lên men OPHS phản ứng với sulfua dưới tác động xúc tác của methionin syntaza phụ thuộc OPHS.

Theo sáng chế, phản ứng chuyển hóa còn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng vi sinh vật biểu hiện methionin syntaza phụ thuộc OPHS, cũng như enzym. Đặc biệt là, enzym và vi sinh vật biểu hiện enzym có thể thu được bằng phương tiện và phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, bằng phương pháp được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 2014/064244, mà không bị giới hạn ở những loại này.

Ngoài ra, theo sáng chế, sulfua là không bị giới hạn miễn sao sulfua phản ứng với *O*-phosphohomoserin dưới tác động xúc tác của methionin syntaza phụ thuộc OPHS, nhưng có thể bao gồm ít nhất một chất được chọn từ CH_3SH , Na_2S , NaSH , $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, H_2S , và $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Theo sáng chế, các bước (c) đến (e) là giống như bước cô, bước điều chỉnh độ pH, và bước kết tinh được mô tả ở trên.

Theo sáng chế, bước (f) (bước tái sử dụng) là bước sử dụng tinh thể phosphat thu hồi được từ bước kết tinh trong môi trường lên men đòi hỏi nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho làm nguồn axit phosphoric và/hoặc phospho. Đặc biệt là, môi trường lên men có thể là môi trường lên men bất kỳ được sử dụng để tạo ra *O*-phosphohomoserin, mà không bị giới hạn ở những loại này.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp thu hồi axit phosphoric từ dịch thải lên men.

Đặc biệt là, phương pháp theo sáng chế bao gồm:

(a) cô dịch thải lên men chứa axit phosphoric (bước cô);

(b) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước

điều chỉnh độ pH);

(c) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh (bước kết tinh); và

(d) tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước tách).

Theo sáng chế, dịch thải lên men là như được mô tả ở trên và có thể bao gồm dịch thải của bước chuyển hóa enzym.

Theo sáng chế, các bước (a) đến (c) là giống như bước cô, bước điều chỉnh độ pH, và bước kết tinh được mô tả ở trên.

Theo sáng chế, phương pháp tách tinh thể phosphat từ nước cái của bước (d) (bước tách) là như được mô tả ở trên trong bước kết tinh.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết có tham chiếu các ví dụ sau đây. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1. Thu hồi axit phosphoric theo nồng độ của dịch thải lên men O-phosphoserin

Ví dụ 1-1. Thu hồi axit phosphoric sử dụng dịch thải lên men O-phosphoserin

Sau khi canh trường lên men O-phosphoserin thu được bằng cách nuôi cấy vi sinh vật có khả năng tạo ra O-phosphoserin (OPS) trong môi trường lên men chứa axit phosphoric, canh trường lên men được phản ứng với sulfua sử dụng O-phosphoserin sulfhydrylaza (OPSS) để thu được canh trường lên men chứa xystein hoặc xystin (Công bố đơn quốc tế số WO 2012/053794). Xystein hoặc xystin được kết tinh trong canh trường lên men và được tách ra từ đó bằng cách tách rắn-lỏng để thu được dịch thải lên men.

Dịch thải lên men O-phosphoserin có thành phần ion (g/lít) là 24,4 ion natri,

6,4 ion amoni, 14,8 ion clo, 3,4 ion sulfat, và 34,3 ion phosphat. 1665ml nước được làm bay hơi từ 2000ml dịch thải ban đầu, và 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (38,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,00. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 185,4g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 159,5g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 124,6 ion natri, 5,3 ion amoni, 5,4 ion clo, 4,2 ion sulfat, và 388,5 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 45,7% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 79,2% trọng lượng.

Ví dụ 1-2. Thu hồi axit phosphoric sử dụng dịch thải lên men *O*-phosphoserin

Dịch thải dựa trên quy trình lên men *O*-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 24,7 ion natri, 6,3 ion amoni, 16,4 ion clo, 3,9 ion sulfat, và 35,8 ion phosphat. 1555ml nước được làm bay hơi từ 1945ml dịch thải ban đầu, và 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (46,5ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,00. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 159,7g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 132,3g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 127,4 ion natri, 10,9 ion amoni, 5,2 ion clo, 3,1 ion sulfat, và 358,6 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 49,6% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 68,0% trọng lượng.

Ví dụ 1-3. Thu hồi axit phosphoric sử dụng *O*-phosphoserin dịch thải lên men

Dịch thải dựa trên quy trình lên men *O*-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 24,6 ion natri, 6,2 ion amoni, 16,3 ion clo, 3,5 ion sulfat, và 35,6 ion phosphat. 1315ml nước được làm bay hơi từ 1975ml dịch thải ban đầu, và

50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (43,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,01. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 99,9g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat dodecahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 186,0g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 110,7 ion natri, 13,5 ion amoni, 2,4 ion clo, 2,8 ion sulfat, và 264,7 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 60,8% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 70,1% trọng lượng.

Ví dụ 1-4. Thu hồi axit phosphoric sử dụng dịch thải lên men O-phosphoserin

Dịch thải dựa trên quy trình lên men O-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 24,5 ion natri, 6,2 ion amoni, 16,3 ion clo, 3,7 ion sulfat, và 35,6 ion phosphat. 980ml nước được làm bay hơi từ 1955ml dịch thải ban đầu, và 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (42,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,04. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 68,4g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat dodecahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 172,9g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 112,8 ion natri, 20,2 ion amoni, 1,2 ion clo, 2,6 ion sulfat, và 255,9 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 61,9% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 63,6% trọng lượng.

Do đó, khẳng định được rằng do nồng độ của ion phosphat chứa trong dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh giảm, tỷ lệ thu hồi axit phosphoric giảm.

Ví dụ 2. thu hồi axit phosphoric theo nhiệt độ làm lạnh

Dịch thải dựa trên quy trình lên men O-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế

có thành phần ion (g/lít) là 23,8 ion natri, 6,5 ion amoni, 15,1 ion clo, 3,4 ion sulfat, và 35,0 ion phosphat. 1600ml nước được làm bay hơi từ 2000ml dịch thải ban đầu (ở nhiệt độ là 50°C hoặc cao hơn), và 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (39,5ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,00. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 159,4g/lít. Điều kiện thử nghiệm là giống với Ví dụ 1-2. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến 25°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 110,6g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 126,8 ion natri, 13,8 ion amoni, 2,7 ion clo, 2,2 ion sulfat, 393,9 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 43,9% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 62,2% trọng lượng. Kết quả này cho thấy rằng nhiệt độ thấp hơn là được ưu tiên để thu được tỷ lệ thu hồi axit phosphoric cao hơn.

Ví dụ 3. Thu hồi axit phosphoric bằng cách điều chỉnh pH bổ sung trước khi cô

Dịch thải dựa trên quy trình lên men O-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 23,4 ion natri, 6,4 ion amoni, 14,9 ion clo, 3,5 ion sulfat, và 34,7 ion phosphat. Trước quá trình bay hơi, 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (39,5ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,02, Tiếp theo, 1600ml nước được làm bay hơi từ 2000ml dịch thải ban đầu. Độ pH của dung dịch phản ứng sau khi làm bay hơi là 7,06 do amoniac được làm bay hơi. Tiếp theo, 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (16,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,00. Nồng độ ion phosphat ion dung dịch phản ứng là 152,4g/lít. Điều kiện cô là giống với Ví dụ 1-2. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 141,6g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 156,8 ion natri, 0,6 ion amoni, 1,1 ion clo, 3,2 ion sulfat, và 338,8 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 51,2% trọng lượng. Tổng tỷ lệ

thu hồi của axit phosphoric là 69,1% trọng lượng. Theo phương pháp này, lượng tạp chất amoni ion chứa trong dinatri hydro phosphat đã được thu hồi là giảm đáng kể khi so sánh với các quy trình khác.

Ví dụ 4. Thu hồi axit phosphoric bằng cách thêm metanol

Ví dụ 4-1. Thu hồi axit phosphoric bằng cách thêm 100ml metanol

Dịch thải dựa trên quy trình lên men O-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 23,8 ion natri, 6,4 ion amoni, 15,3 ion clo, 6,4 ion sulfat, và 37,1 ion phosphat. 1600ml nước được làm bay hơi từ 2000ml dịch thải ban đầu. Tiếp theo, 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (48,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,07 và 100ml metanol được thêm vào đó. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 135,2g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 182,7g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 135,5 ion natri, 24,9 ion amoni, 13,1 ion clo, 2,2 ion sulfat, và 328,5 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 49,6% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 81,0% trọng lượng.

Ví dụ 4-2. Thu hồi axit phosphoric bằng cách thêm 200ml metanol

Dịch thải dựa trên quy trình lên men O-phosphoserin theo ví dụ của sáng chế có thành phần ion (g/lít) là 23,9 ion natri, 6,4 ion amoni, 15,3 ion clo, 3,9 ion sulfat, và 37,3 ion phosphat. 1600ml nước được làm bay hơi từ 2000ml dịch thải ban đầu. Tiếp theo, 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (47,0ml), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,04 và 200ml metanol được thêm vào đó. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 115,2g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của sản phẩm cuối cùng là 182,0g. Sản phẩm cuối cùng có thành phần ion (g/kg) là 122,9 ion natri, 38,9 ion amoni, 15,9 ion clo, 2,4 ion sulfat, và 328,2 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 46,6% trọng lượng. Tổng tỷ lệ thu hồi của axit phosphoric là 80,2% trọng lượng.

Do đó, khẳng định được rằng tỷ lệ thu hồi axit phosphoric tăng lên bằng cách thêm metanol sau khi điều chỉnh độ pH hoặc trong bước điều chỉnh độ pH.

Ví dụ 5. Thu hồi axit phosphoric bằng cách kết tinh hai giai đoạn

Dựa trên Công bố đơn quốc tế số WO 2014/182125, lên men *O*-phosphoserin và phản ứng chuyển hóa enzym của L-xystein được thực hiện. Sau các quy trình này, dịch lỏng thải của quy trình có thành phần ion (g/lít) là 21,7 ion natri, 4,4 ion amoni, 16,0 ion clo, 30,1 ion sulfat, và 30,3 ion phosphat. 16,7 lít nước được làm bay hơi từ 20 lít dịch thải ban đầu, 50% (trọng lượng) dung dịch nước chứa natri hydroxit (0,4 lít), được thêm vào đó cho đến khi độ pH đạt tới 9,00. Dung dịch này có nồng độ ion phosphat là 162,1g/lít. Dung dịch phản ứng được làm lạnh đến 15°C để thu được dinatri hydro phosphat heptahydrat. Huyền phù đặc của dinatri hydro phosphat heptahydrat được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết. Khối lượng của dinatri hydro phosphat heptahydrat đã được thu hồi là 1339,0g. Sản phẩm có thành phần ion (g/kg) là 133,5 ion natri, 18,7 ion amoni, 5,3 ion clo, 1,3 ion sulfat, và 323,4 ion phosphat. Hàm lượng ẩm của sản phẩm cuối cùng là 48,2% trọng lượng.

Sau khi lọc huyền phù đặc, dịch lọc có thành phần ion (g/lít) là 13,3 ion natri, 6,8 ion amoni, 98,9 ion clo, 16,8 ion sulfat, và 40,2 ion phosphat. 1,1g dinatri hydro phosphat dodecahydrat (mẫu được điều chế trong Ví dụ 1-3) được thêm vào 3,2 lít dịch lọc còn lại và được khuấy ở 15°C trong 4 giờ. Huyền phù đặc của dinatri hydro phosphat dodecahydrat được lọc sử dụng máy lọc rô ly tâm và được rửa bằng nước tinh khiết.

Khối lượng của dinatri hydro phosphat đã được thu hồi dodecahydrat là 299,0g. Sản phẩm có thành phần ion (g/kg) là 128,2 ion natri, 6,1 ion clo, 3,8 ion

sulfat, và 239,5 ion phosphat. Hàm lượng ẩm là 61,3% trọng lượng. Tỷ lệ thu hồi cuối cùng của axit phosphoric của quy trình hai bước được mô tả trên đây là 83,2% trọng lượng. Khi dinatri hydro phosphat heptahydrat đã được thu hồi được trộn với dinatri hydro phosphat dodecahydrat và được tái sử dụng làm tiền chất cho quá trình lên men *O*-phosphoserin, quy trình lên men được tiến hành mà không có vấn đề nào.

Ví dụ 6. Điều chế *O*-phosphoserin sử dụng dinatri hydro phosphat đã được thu hồi

Cũng được lưu giữ dưới số lưu giữ KCCM11103P và được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 2012/053794 được ủ trên đĩa môi trường aga MMYE chứa 50µg/ml spectinomycin (2g/lít glucoza, 2mM magie sulfat, 0,1mM canxi clorua, 6g/lít natri pyrophosphat, 0,5g/lít natri clorua, 3g/lít dinatri hydro phosphat thu hồi được theo sáng chế, 10g/lít dịch chiết nấm men, và 18g/lít aga) ở 33°C trong 24 giờ. Các tế bào thu được được cạo ra từ 1/10 diện tích của mỗi đĩa aga, được nuôi cấy trong 50ml môi trường hạt mầm kết tinh trong bình chứa 50µg/ml spectinomycin (10g/lít glucoza, 0,5g/lít magie sulfat, 3g/lít kali dihydro phosphat, 10g/lít dịch chiết nấm men, 0,5g/lít natri clorua, 1,5g/lít ammonium clorua, 12,8g/lít natri pyrophosphat, và 1g/lít glyxin) trong một bình có vách ngăn và được ủ ở 30°C trong 6 giờ ở 200 vòng/phút.

Sau khi việc nuôi cấy hạt giống được hoàn thành, môi trường nuôi cấy hạt giống với lượng 16% thể tích của môi trường nuôi cấy chính được cấy vào thiết bị lên men nhỏ dung tích 1 lít chứa đầy 300ml môi trường nuôi cấy chính, sau đó ủ ở 33°C và pH=7,0. Trong thời gian ủ, độ pH được điều chỉnh đến 7,0 bằng cách thêm nước amoniac. Sau khi rút kiệt glucoza từ môi trường, nuôi cấy theo mẻ được thực hiện bằng cách thêm dung dịch glucoza 520g/lít và dung dịch dinatri hydro phosphat 300g/lít được thu hồi theo sáng chế. Sau khi thực hiện ủ trong 80 giờ, *O*-phosphoserin ở nồng độ 29,3g/lít được đo bằng phương pháp HPLC.

Ví dụ so sánh. Điều chế *O*-phosphoserin sử dụng axit phosphoric tinh khiết

Màu được lưu giữ dưới số lưu giữ KCCM11103P được ủ trong môi trường hạt giống và môi trường chính theo cách tương tự như trong Ví dụ 6. Sau khi rút kiệt glucoza, việc nuôi cấy theo mẻ được thực hiện bằng cách thêm dung dịch glucoza

520g/lít và axit photphoric tinh khiết 200g/lít vào đó. Sau khi thực hiện ủ trong 80 giờ, *O*-phosphoserin ở nồng độ 29,5g/lít được đo bằng phương pháp HPLC.

Do đó, người ta đã xác nhận rằng, theo phương pháp thu hồi axit photphoric từ môi trường lên men và tái sử dụng chúng, phosphat có thể được thu hồi bằng cách kết tinh phosphat trong canh trường lên men hoặc dịch thải lên men, và bằng cách sử dụng phosphat đã thu hồi trong quá trình lên men này, sản phẩm lên men có thể thu được với lượng tương tự như lượng thu được sử dụng axit phosphoric tinh khiết, và do đó phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng theo quy trình lên men rất hiệu quả.

Mô tả trên đây của sáng chế được cung cấp nhằm mục đích minh họa, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng những thay đổi và cải biến khác nhau có thể được thực hiện mà không làm thay đổi quan niệm kỹ thuật và các dấu hiệu thiết yếu của sáng chế. Vì vậy, rõ ràng là các phương án được mô tả trên đây nhằm minh họa cho tất cả các khía cạnh và không làm giới hạn sáng chế. Các phương án khác nhau được tiết lộ ở đây không nhằm mục đích giới hạn, với phạm vi và tinh thần thực sự được chỉ định bởi Yêu cầu bảo hộ sau đây. Sáng chế chỉ được giới hạn bởi các thuật ngữ của phần Yêu cầu bảo hộ sau đây, cùng với toàn bộ phạm vi tương đương mà các Yêu cầu bảo hộ này được bảo hộ.

Yêu cầu bảo hộ

1. Phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) cô canh trường lên men hoặc dịch thải lên men chứa axit phosphoric (bước cô);

(b) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(c) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(d) bằng cách sử dụng phosphat đã được kết tinh trong môi trường lên men làm nguồn axit phosphoric (bước tái sử dụng),

trong đó, phosphat là dinatri hydro phosphat hoặc hydrat của nó.

2. Phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) tạo ra *O*-phosphoserin (OPS) bằng cách sử dụng vi sinh vật trong môi trường lên men chứa axit phosphoric (bước lên men OPS);

(b) điều chế canh trường lên men chứa cystein hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho *O*-phosphoserin được tạo ra trong bước (a) phản ứng với sulfua với sự có mặt của *O*-phosphoserin sulfhydrylaza (OPSS) hoặc vi sinh vật biểu hiện OPSS (bước chuyển hóa);

(c) cô canh trường lên men; hoặc dịch thải lên men thu được bằng cách loại bỏ cystein hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men (bước cô);

(d) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(e) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(f) bằng cách sử dụng phosphat đã được kết tinh trong môi trường lên men làm nguồn axit phosphoric (bước tái sử dụng),

trong đó, phosphat là dinatri hydro phosphat hoặc hydrat của nó.

3. Phương pháp thu hồi axit phosphoric từ canh trường lên men hoặc dịch thải lên men và việc tái sử dụng axit phosphoric đã được thu hồi này, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) tạo ra *O*-phosphohomoserin (OPHS) bằng cách sử dụng vi sinh vật trong môi trường lên men chứa axit phosphoric (bước lên men OPHS);

(b) điều chế canh trường lên men chứa methionin hoặc dẫn xuất của nó bằng cách cho *O*-phosphohomoserin được tạo ra trong bước (a) phản ứng với sulfua với sự có mặt của methionin syntaza phụ thuộc *O*-phosphohomoserin hoặc vi sinh vật biểu hiện methionin syntaza phụ thuộc *O*-phosphohomoserin (bước chuyển hóa);

(c) cô canh trường lên men; hoặc dịch thải lên men thu được bằng cách loại bỏ methionin hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men (bước cô);

(d) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(e) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước kết tinh); và

(f) cách sử dụng phosphat đã được kết tinh trong môi trường lên men làm nguồn axit phosphoric (bước tái sử dụng),

trong đó, phosphat là dinatri hydro phosphat hoặc hydrat của nó.

4. Phương pháp thu hồi axit phosphoric, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) cô dịch thải lên men chứa axit phosphoric (bước cô);

(b) điều chỉnh độ pH của dịch cô đặc nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước điều chỉnh độ pH);

(c) kết tinh phosphat từ dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh (bước kết tinh); và

(d) tách phosphat đã được kết tinh từ nước cái (bước tách),

trong đó, phosphat là dinatri hydro phosphat hoặc hydrat của nó.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó canh trường lên men là (i) canh trường lên men O-phosphoserin (OPS), (ii) canh trường lên men O-phosphohomoserin (OPHS), hoặc (iii) canh trường lên men chứa axit amin hoặc dẫn xuất của nó, được điều chế bằng cách thêm enzym chuyển hóa hoặc vi sinh vật biểu hiện enzym chuyển hóa; và sulfua vào canh trường lên men, và

dịch thải lên men là dịch thải thu được bằng cách loại bỏ axit amin hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men.

6. Phương pháp theo điểm 2 hoặc 3, trong đó sulfua là ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm CH_3SH , Na_2S , NaSH , $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, H_2S , và $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

7. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 4, trong đó dịch thải lên men thu được bằng cách loại bỏ axit amin hoặc dẫn xuất của nó từ canh trường lên men.

8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó bước điều chỉnh độ pH được thực hiện bằng cách thêm hydroxit vào dịch cô đặc.

9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó hydroxit là natri hydroxit hoặc dung dịch nước chứa natri hydroxit.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này còn chứa bước làm lạnh dịch cô đặc có độ pH đã được điều chỉnh nằm giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh hoặc trong bước kết tinh.
11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này còn chứa bước thêm tinh thể phosphat, làm nhân tinh thể, giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh hoặc trong bước kết tinh.
12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hydrat là dinatri hydro phosphat heptahydrat hoặc dinatri hydro phosphat dodecahyrat.
13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này còn chứa kết tinh phosphat từ nước cái (bước kết tinh thứ hai).
14. Phương pháp theo điểm 13, trong đó bước kết tinh thứ hai bao gồm (i) cô nước cái (bước cô lại), (ii) điều chỉnh độ pH của nước cái nằm trong khoảng từ 8 đến 11 (bước tái điều chỉnh độ pH), và (iii) kết tinh phosphat từ nước cái có độ pH đã được điều chỉnh và tách phosphat đã được kết tinh từ đó (bước tái kết tinh).
15. Phương pháp theo điểm 14, trong đó phương pháp này còn chứa bước thêm tinh thể phosphat, làm nhân tinh thể, đến nước cái giữa bước tái điều chỉnh độ pH và bước tái kết tinh hoặc trong bước tái kết tinh.
16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này còn chứa điều chỉnh độ pH của canh trường lên men hoặc dịch thải lên men nằm trong khoảng từ 8 đến 11 trước bước cô.
17. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó phương pháp này còn chứa bước thêm rượu trong bước điều chỉnh độ pH; hoặc giữa bước điều chỉnh độ pH và bước kết tinh.

18. Phương pháp theo điểm 17, trong đó rượu là metanol, etanol, propanol, butanol, hoặc hỗn hợp bất kỳ của nó.

Fig. 1.

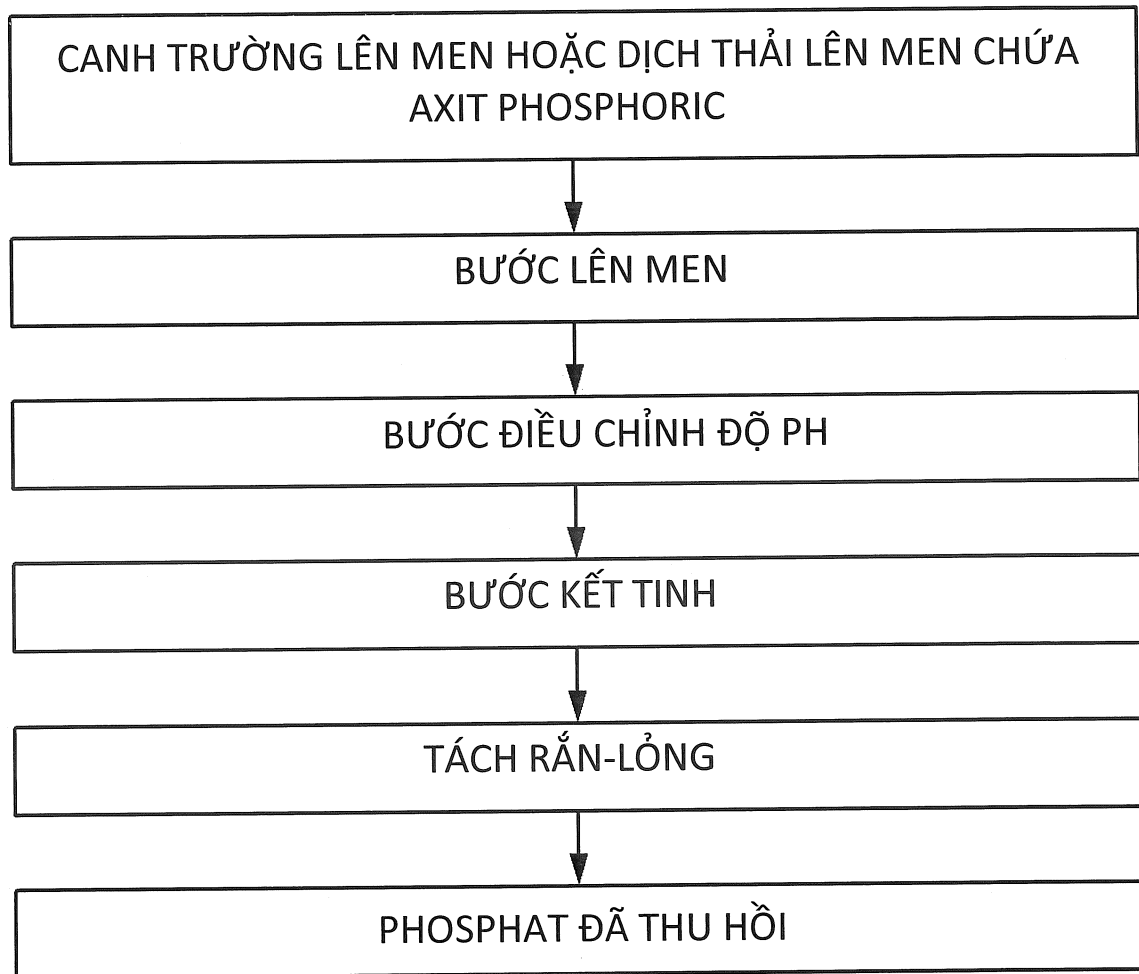


FIG. 2.

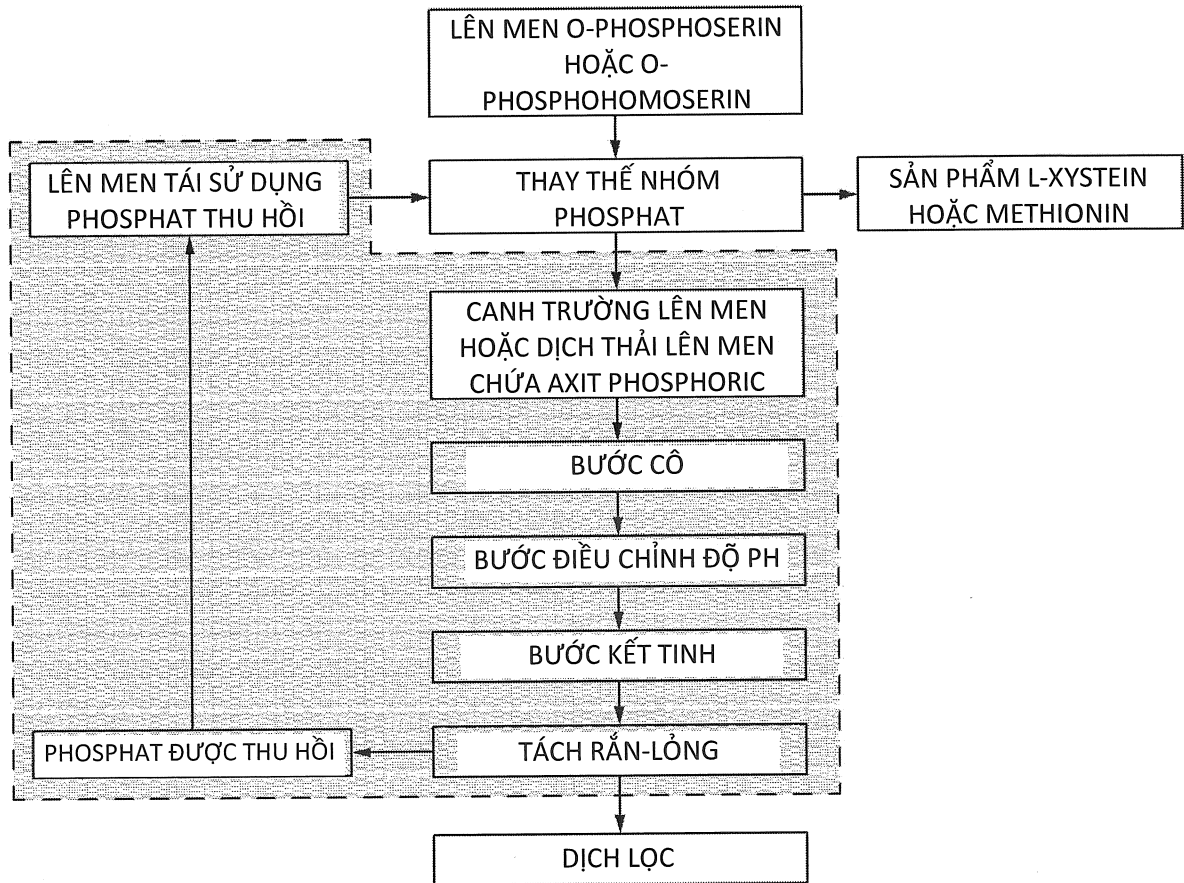


FIG. 3.

