



(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)



1-0052251

(51)^{2020.01} A61L 27/02; C01F 11/18; C01B 25/32

(13) B

(21) 1-2021-05730

(22) 18/02/2020

(86) PCT/US2020/018646 18/02/2020

(87) WO2020/168342 20/08/2020

(30) 62/806,346 15/02/2019 US

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/02/2022 407A

(73) Biomason Inc. (US)

2 Triangle Drive, Durham, North Carolina 27709, United States of America

(72) DOSIER, Ginger K. (US); DOSIER, J. Michael (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VẬT LIỆU XÂY DỰNG CANXI CACBONAT

(21) 1-2021-05730

(57) Sáng chế đề cập đến các chế phẩm, dụng cụ và phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng, khối, kết cấu rắn và các chế phẩm để tạo điều kiện kiểm soát bụi. Cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất gạch, khối và các kết cấu rắn khác bằng cách sử dụng một lượng nhỏ vật liệu cốt liệu được chứa trước bào tử và/hoặc tế bào vi khuẩn sinh dưỡng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm, dụng cụ và phương pháp thiêu kết sinh học liên quan đến sự phân rã bằng enzym và sự biến đổi của canxi cacbonat. Cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất gạch, khối và các kết cấu rắn khác, kiểm soát bụi và thi công đường, lối đi và các bề mặt rắn khác bằng cách sử dụng một hoặc nhiều enzym kết tủa và/hoặc hòa tan canxi cacbonat.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Công trình dùng gạch và bê tông truyền thống chủ yếu phụ thuộc vào việc đốt các nguồn tự nhiên như than và gỗ. Sự phụ thuộc này dẫn đến việc tiêu thụ một lượng lớn các nguồn năng lượng và thải ra lượng lớn khí cacbon dioxit tương ứng, do đó phụ thuộc rất nhiều vào các nguồn năng lượng có hạn. Giải pháp thay thế cho các quy trình truyền thống bao gồm quy trình được gọi là quy trình kết tủa canxi do vi sinh vật (MICP) gây ra. MICP bao gồm bước trộn ureaza và ure dưới dạng nguồn năng lượng với vật liệu cốt liệu, ví dụ, cát. Enzym xúc tác quá trình sản xuất amoniac và cacbon dioxit, làm tăng độ pH của chế phẩm. Enzym thứ hai, cacbonic anhydrase, tạo điều kiện cho quá trình chuyển đổi cacbon dioxit thành anion cacbonat. Độ pH tăng tạo ra "kết tủa" khoáng chất, kết hợp các cation canxi với các anion cacbonat. Các hạt có trong hỗn hợp đóng vai trò làm vị trí tạo mầm, thu hút các ion khoáng chất từ canxi tạo ra tinh thể canxi. Sự phát triển khoáng chất lấp đầy các khoảng trống giữa các hạt cát tạo xi măng sinh học hoặc liên kết chúng với nhau. Tốt hơn là, các hạt bao gồm các khoảng trống có chiều rộng ít nhất là 5 micron nhưng có thể lớn hơn hoặc nhỏ hơn như mong muốn. Vật liệu tạo ra có các đặc tính vật lý và hợp phần tương tự với khối, gạch hoặc các kết cấu rắn khác được tạo ra tự nhiên. Độ cứng có thể được xác định trước dựa trên ít nhất kết cấu của các thành phần ban đầu và cỡ lỗ mong muốn.

Vi khuẩn sản xuất enzym có khả năng hòa tan canxi cacbonat bao gồm *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Firmicutes*, hoặc *Actinobacteria*. Vi khuẩn sản xuất enzym có khả năng tạo xi măng sinh học bao gồm *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*,

Proteus mirabilis, hoặc *Helicobacter pylori*, mặc dù cần quan tâm đúng mức đến các chủng gây bệnh. Các dạng kết hợp bất kỳ của các chủng này cũng như các biến thể chức năng, các đột biến và các chủng được biến đổi di truyền cũng có thể được sử dụng. Chế phẩm vi khuẩn chứa môi trường dinh dưỡng để duy trì và/hoặc cho phép các tế bào phát triển và tăng sinh. Các loại môi trường dinh dưỡng cho tế bào khác nhau, và cụ thể là tế bào vi khuẩn theo sáng chế đã được biết đến và có bán trên thị trường và bao gồm ít nhất môi trường tối thiểu (hoặc môi trường vận chuyển) thường được sử dụng để vận chuyển nhằm duy trì khả năng sống sót mà không cần nhân giống, và dịch chiết men, và mật đường, thường được sử dụng để phát triển và nhân giống.

Phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng này thông qua quá trình xi măng hóa cảm ứng có năng lượng được biểu hiện ở mức thấp, và có thể xảy ra ở áp suất môi trường xung quanh và trong phạm vi nhiệt độ rộng. Nhiệt độ môi trường xung quanh và các điều kiện cũng như hàm lượng của cốt liệu có sẵn có thể xác định xem liệu enzym tinh khiết, enzym đông khô hoặc các tế bào sống có được dùng làm thành phần ban đầu hay không. Nhìn chung, các tế bào sống được sử dụng ở nhiệt độ ấm hơn, nơi tồn tại điều kiện thời tiết ôn hòa, trong khi các enzym tinh khiết có thể có lợi ở điều kiện lạnh hoặc nóng khắc nghiệt hơn. Việc đưa vào đơn vị xây dựng được thiết kế sinh học bằng cách sử dụng khối kết tụ cát và quá trình xi măng hóa được gây cảm ứng tự nhiên tạo ra sự thay thế tự nhiên có thể được sản xuất cục bộ và thân thiện với môi trường. Vì hầu như không cần gia nhiệt nên tiết kiệm năng lượng rất lớn cả về chi phí và hiệu quả.

Một ưu điểm khác của MICP là quy trình có thể được sử dụng ở cả quy mô nhỏ và lớn, và cũng dễ dàng tự động hóa. Phần lớn nội dung của quy trình sản xuất nê theo sáng chế này có thể là vật liệu bất kỳ có sẵn tại địa phương, bao gồm đá, cát, sỏi và hầu hết mọi loại đá. Việc xử lý đá, như nghiền hoặc phá vỡ thành từng mảnh, cũng có thể được thực hiện tại địa phương. Do đó, chi phí và chi phí vận chuyển được giảm thiểu. Chế phẩm theo sáng chế (có thể được cung cấp đông khô và ngâm nước tại chỗ), khung gạch (nếu không có sẵn) và hướng dẫn phù hợp là tất cả những gì cần được cung cấp. Nếu cần vận chuyển, đây chỉ là một phần nhỏ của chi phí giao hàng, đặc biệt là so với chi phí hiện tại liên quan đến việc giao hàng bê tông thông thường.

Một ưu điểm khác của quy trình MICP là sản xuất vật liệu xây dựng “phát triển”, như gạch, chủ yếu bằng cách sử dụng khoáng chất, MICP và cốt liệu rời rạc,

như cát. Không chỉ gạch và các vật liệu xây dựng khác có thể được tạo ra, mà chính các viên gạch có thể được gắn kết vào những vị trí mong muốn để “gắn kết bằng xi măng” các viên gạch với nhau và/hoặc với các vật liệu khác, từ đó tạo ra các tòa nhà, bộ phận hoặc kết cấu đỡ, tường, đường, và các kết cấu khác.

Gạch và khối xây sinh học không yêu cầu sử dụng vữa xi măng Portland truyền thống, cho phép giảm lượng khí cacbon dioxid trong khí quyển bằng cách cung cấp giải pháp thay thế cho các vật liệu xây dựng được sản xuất truyền thống bằng năng lượng cao. Việc sử dụng tế bào để gây cảm ứng tự nhiên sự kết tủa khoáng chất, kết hợp với cốt liệu cục bộp và phương pháp sản xuất nhanh chóng cho phép sản xuất vật liệu xây dựng địa phương, sinh thái và kinh tế để sử dụng trong ngành công nghiệp xây dựng toàn cầu.

Mặc dù MICP có thể được sử dụng để tạo ra hầu như tất cả các dạng gạch, khối hoặc kết cấu rắn được sử dụng trong xây dựng, các phương pháp hiệu quả để sản xuất quy mô lớn vẫn chưa được phát triển. Do đó, có nhu cầu về quy trình nhanh chóng và thuận tiện mang lại sự nhất quán cho việc sản xuất khối xây vừa tiết kiệm vừa an toàn với môi trường. Ngoài ra, các thành phần ban đầu cần thiết cho MICP không phải luôn luôn sẵn có. Nguồn canxi thường chỉ có sẵn ở dạng canxi cacbonat rắn. Vì vậy, cần có nguồn cung cấp canxi.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế khắc phục các vấn đề và nhược điểm liên quan đến các chiến lược và thiết kế hiện có, và cung cấp các công cụ, chế phẩm và phương pháp để sản xuất vật liệu xây dựng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp bao gồm bước cung cấp môi trường nước thứ nhất chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat, kết hợp môi trường nước thứ nhất với canxi cacbonat trong các điều kiện thúc đẩy hoạt tính của các enzym hòa tan canxi cacbonat và thu các ion canxi và/hoặc cacbon tự do.

Theo một phương án được ưu tiên, môi trường nước bao gồm một hoặc nhiều muối, axit amin, protein, peptit, hydrat cacbon, sacarit, polysacarit, axit béo, dầu, vitamin và khoáng chất cho sự phát triển và tăng sinh của vi sinh vật, hoặc được duy trì trong môi trường tối thiểu cho đến khi sử dụng. Tốt hơn là, các vi sinh vật bao gồm một hoặc nhiều các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Alphaproteobacteria*, *Betaprobacteria*, *Gammaprobactreia*, *Firmicutes*, hoặc

Actinobacteria. Tốt hơn là, các vi sinh vật bao gồm một hoặc nhiều các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Variovorax*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rathayibacter*, *CellFimi2*, *Streptomyces*, và/hoặc *Raoultella*.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra canxi cacbonat. Phương pháp này bao gồm bước cung cấp môi trường nước thứ hai chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym tạo ra canxi cacbonat, kết hợp môi trường nước thứ hai trong các điều kiện thúc đẩy hoạt tính của các enzym tạo ra canxi cacbonat với các ion canxi thu được và/hoặc cacbon tự do thu được, và tạo ra canxi cacbonat. Các ion canxi và/hoặc cacbon tự do thu được nhờ cung cấp môi trường nước thứ nhất chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat, kết hợp môi trường nước thứ nhất với canxi cacbonat trong các điều kiện thúc đẩy hoạt tính của các enzym hòa tan canxi cacbonat, và thu ion canxi và/hoặc cacbon tự do.

Tốt hơn là, các vi sinh vật bao gồm một hoặc nhiều các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, *Helicobacter pylori*, và/hoặc vi sinh vật sản xuất ureaza và/hoặc cacbonic anhydraza. Theo một phương án được ưu tiên, bước kết hợp bao gồm việc bổ sung chất liên kết. Tốt hơn là, chất liên kết bao gồm polyme, sacarit, polysacarit, hydrat cacbon, protein, peptit, axit béo, dầu, axit amin hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat và vật liệu cốt liệu.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng. Phương pháp này bao gồm bước cung cấp môi trường nước thứ nhất chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat, kết hợp môi trường nước thứ nhất với canxi cacbonat trong các điều kiện thúc đẩy hoạt tính của các enzym hòa tan canxi cacbonat tạo ra các ion canxi và/hoặc cacbon tự do, kết hợp các ion canxi và/hoặc cacbon tự do với môi trường nước thứ hai chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym tạo ra canxi cacbonat, và tạo ra canxi cacbonat.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng. Phương pháp này bao gồm bước cung cấp môi trường nước chứa vô số vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat và các vi sinh vật biểu hiện enzym biểu

hiện enzym tạo ra canxi cacbonat; kết hợp môi trường này với canxi cacbonat tạo ra các ion canxi và/hoặc cacbon tự do, và tạo ra canxi cacbonat.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan và tạo ra canxi cacbonat, và vật liệu cốt liệu. Tốt hơn là, canxi cacbonat bao gồm vật liệu xây dựng. Theo một phương án được ưu tiên, vật liệu xây dựng bao gồm gạch, gạch mỏng, gạch lát vỉa hè, tấm, gạch men, gạch ốp lát, gạch xi, gạch lỗ, gạch bê tông đúc sẵn, gạch clinke hoặc gạch khí chưng áp, phản hoặc mặt bàn, kết cấu thiết kế, khối, kết cấu xây dựng khối đặc, trụ, móng, dầm, tường, hoặc tấm (ví dụ, bê tông).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp vi sinh vật, trong đó một nhóm vi sinh vật hòa tan canxi cacbonat khi tiếp xúc với điều kiện thứ nhất, và một nhóm vi sinh vật khác tạo ra canxi cacbonat ở điều kiện thứ hai, về cơ bản là giống hoặc khác với điều kiện thứ nhất. Tốt hơn là, chế phẩm còn chứa vật liệu cốt liệu như, ví dụ, đá vôi, cát, vật liệu silicat, hoặc dạng kết hợp của chúng, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10% đến khoảng 95% trọng lượng (ví dụ, khoảng 20%, khoảng 30%, khoảng 40%, khoảng 50%, khoảng 60%, khoảng 70%, khoảng 80%, khoảng 90%) chế phẩm. Phần trăm cốt liệu cao hơn thường được sử dụng trong khi phần trăm cốt liệu thấp hơn có thể được sử dụng trong chế phẩm ở dạng cô đặc để bảo quản hoặc vận chuyển. Tốt hơn là, các vi sinh vật thứ nhất, ở dạng tế bào và/hoặc bào tử, bao gồm một hoặc nhiều các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Alphaproteobacteria*, *Betaprobacteria*, *Gammaprobactreia*, *Firmicutes*, hoặc *Actinobacteria*, và tốt hơn nữa là vi sinh vật thứ nhất chiếm trong khoảng từ 10% đến khoảng 40% trọng lượng chế phẩm. Tốt hơn là, vi sinh vật thứ hai ở dạng tế bào và/hoặc bào tử, bao gồm một hoặc nhiều các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, hoặc *Helicobacter pylori*. Tốt hơn là, vi sinh vật thứ nhất và thứ hai được kết hợp chiếm trong khoảng từ 10% đến khoảng 100% trọng lượng (ví dụ, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%) chế phẩm. Tỷ lệ phần trăm cao hơn của các thành phần không chứa cốt liệu của chế phẩm thường sử dụng để bảo quản hoặc vận chuyển trong khi phần trăm thấp hơn của các thành phần không chứa cốt liệu của chế

phẩm thường được sử dụng hơn. Tốt hơn là, chế phẩm có thể không chứa vật liệu cốt liệu, mà chỉ được bổ sung vào trước khi sử dụng theo mong muốn cho ứng dụng cụ thể. Tốt hơn là, chế phẩm chứa nước với lượng là khoảng 25% trọng lượng hoặc ít hơn, 20% trọng lượng hoặc ít hơn, 10% trọng lượng hoặc ít hơn, khoảng 5% trọng lượng hoặc ít hơn, hoặc khoảng 2% trọng lượng hoặc ít hơn. Chế phẩm cũng có thể chứa các thành phần hỗ trợ sự nảy mầm và/hoặc phát triển của vi sinh vật thứ nhất và/hoặc thứ hai như, ví dụ, chất dinh dưỡng, đường, polysacarit, dung dịch đệm, muối, chất ổn định, chất bảo quản. Tốt hơn là, vi sinh vật thứ nhất và thứ hai vẫn tồn tại trong chế phẩm trong 3 tháng hoặc lâu hơn, 6 tháng hoặc lâu hơn, 9 tháng hoặc lâu hơn, 12 tháng hoặc lâu hơn, 24 tháng hoặc lâu hơn, hoặc 36 tháng hoặc lâu hơn.

Các phương án và ưu điểm khác theo sáng chế được đề cập một phần trong phần mô tả sau đây, và một phần, có thể rõ ràng từ phần mô tả này, hoặc có thể được học hỏi từ thực tiễn của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Việc sản xuất khối xây và các vật liệu xây dựng khác bằng cách sử dụng quy trình đã biết dưới dạng quy trình kết tủa canxit do vi sinh vật gây ra (MICP) đã được mô tả rộng rãi trong một số patent Mỹ (ví dụ, xem, patent Mỹ số 8,728,365; 8,951,786; 9,199,880; và 9,428,418; mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Trong các quy trình này, các tế bào sản xuất ureaza hoặc các enzym ureaza được trộn với cốt liệu và ủ với ure và nguồn canxi. Các liên kết canxit tạo ra giữa các hạt cốt liệu tạo ra kết cấu rắn. Mặc dù quy trình này cho phép sản xuất vật liệu xây dựng, nhưng nhìn chung quy trình sản xuất yêu cầu việc tiêu chuẩn hóa cho mục đích sản xuất quy mô lớn.

Bất ngờ là, đã phát hiện ra rằng canxi có thể thu được từ quá trình hòa tan canxi cacbonat bởi các vi sinh vật sản xuất các enzym hòa tan canxi cacbonat, và/hoặc chính các enzym này, nhờ đó tạo ra các ion canxi và ion cacbon. Các vi sinh vật sản xuất enzym hòa tan canxi cacbonat bao gồm các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Firmicutes*, hoặc *Actinobacteria* như, ví dụ, các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Variovorax*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rathayibacter*, *CellFimi2*, *Streptomyces*, và/hoặc *Raoultella*. Các ion canxi được sản xuất bởi các enzym này và có khả năng là các ion cacbon tự do có thể

được sử dụng bởi các vi sinh vật biểu hiện enzym sản xuất canxi cacbonat. Các vi sinh vật sản xuất enzym sản xuất canxi cacbonat bao gồm các loài, phân loài, chủng hoặc kiểu huyết thanh của *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, *Helicobacter pylori*, và/hoặc vi sinh vật sản xuất ureaza và/hoặc cacbonic anhydrase bất kỳ.

Quy trình thiêu kết sinh học không dùng nhiệt hoặc áp suất sử dụng các vi sinh vật sản xuất các enzym phân hủy canxi cacbonat như một nguồn canxi có thể được sử dụng để biến đổi canxi cacbonat bằng cách sử dụng các vi sinh vật sản xuất các enzym tạo ra canxi cacbonat. Theo cách tương tự, sự hòa tan canxi cũng giải phóng cacbon có thể được sử dụng làm nguồn cacbon để tạo ra canxi cacbonat.

Canxi và canxi cacbonat được sản xuất bởi các enzym có thể được tiêu chuẩn hóa, và theo đó quy trình sản xuất được nâng cao. Sự tiêu chuẩn hóa đạt được bằng cách thêm môi trường nước vào quá trình tích tụ vi khuẩn sống tạo ra hỗn hợp nước và ủ hỗn hợp nước trong các điều kiện thúc đẩy quá trình nhân giống. Đối với tế bào hòa tan canxi cacbonat, tế bào được trộn với chất rắn canxi cacbonat. Để tạo ra canxi cacbonat, các tế bào hoặc enzym được trộn với vật liệu thô để tạo ra canxi cacbonat. Tế bào sinh dưỡng hoặc enzym có thể được trộn với các hạt (ví dụ, các hạt canxi cacbonat hoặc các hạt cốt liệu phù hợp với/hoặc tương tự như kết cấu rắn được tạo ra), tạo ra một loại huyền phù và huyền phù này được cô đặc bằng cách loại bỏ ít nhất một phần dung dịch nước, về cơ bản là nước, nhưng không phải là tế bào. Việc giữ lại các tế bào có thể đạt được bằng cách sử dụng các hạt cốt liệu có kích thước hoặc kích thước trung bình và chế phẩm cho phép truyền chất lỏng như nước nhưng vẫn giữ lại các tế bào. Các hạt cốt liệu siêu mịn này có thể được duy trì ở dạng huyền phù hoặc chất lỏng khác nữa có thể được loại bỏ theo mong muốn để tạo ra kết cấu dạng bột hoặc rắn.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra môi trường nuôi cấy ban đầu chứa canxi cacbonat hòa tan và/hoặc canxi cacbonat tạo ra vi sinh vật. Nước và vật liệu nước hòa tan có thể được bổ sung hoặc loại bỏ và các vi sinh vật mong muốn. Vi sinh vật có thể được duy trì ở dạng huyền phù hoặc được sấy khô ở dạng bột hoặc rắn. Tốt hơn là, các vi sinh vật được duy trì ở dạng nước hoặc dạng sấy khô có khả năng chống lại sự thay đổi của nhiệt độ hoặc hầu hết các điều kiện khác bên ngoài,

và do đó có thể được duy trì trong thời gian dài. Bằng cách này, số lượng lớn vi sinh vật có thể được duy trì để điều phối các hoạt động sản xuất lớn.

Trong bước thứ nhất, vi khuẩn tạo ra bào tử được nuôi cấy, tốt hơn là trong các điều kiện thúc đẩy sự tạo ra bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng. Các điều kiện nuôi cấy bao gồm môi trường nước chứa một hoặc nhiều chất như muối, axit amin, protein, peptit, hydrat cacbon, sacarit, polysacarit, axit béo, dầu, vitamin và khoáng chất. Các vi sinh vật hòa tan canxi cacbonat được ưu tiên bao gồm *Variovorax*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rathayibacter*, *CellFimi2*, *Streptomyces*, và/hoặc *Raoultella*. Vi sinh vật tạo ra canxi cacbonat được ưu tiên bao gồm một hoặc nhiều chủng của *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, *Helicobacter pylori*, và/hoặc vi sinh vật sản xuất ureaza và/hoặc cacbonic anhydraza bất kỳ. Vi sinh vật được duy trì trong môi trường tối thiểu cho đến khi sử dụng, và được nuôi cấy trong môi trường nước, tốt hơn là khi ủ ở độ pH sinh lý và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 40°C. Tốt hơn là, việc ủ được thực hiện trong khoảng 6 giờ đến khoảng 6 ngày, tốt hơn nữa là trong khoảng từ 1 đến 3 ngày, hoặc một thời gian ngắn nếu cần thiết để tạo ra số lượng bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng mong muốn trên mỗi vi khuẩn.

Tốt hơn là, việc tạo ra bào tử hoặc tạo ra tế bào sinh dưỡng được đẩy nhanh, mặc dù bước kích thích không được yêu cầu, và vi sinh vật có thể được ly tâm hoặc nếu không thì cô đặc, và tốt hơn là được tạo huyền phù thành huyền phù đặc với môi trường hoặc chất lỏng phù hợp khác để duy trì vi sinh vật mà không đẩy nhanh sự phát triển và/hoặc tăng sinh (một giải pháp trạng thái). Theo cách khác, vi sinh vật có thể được trộn với cốt liệu mà không cần cô đặc, có thể thích hợp hơn để sản xuất các lô tế bào sinh dưỡng. Tốt hơn là, chế phẩm này còn chứa vật liệu cốt liệu như, ví dụ, đá vôi, cát, vật liệu silicat hoặc dạng kết hợp của chúng. Tốt hơn là, cốt liệu có thể bao gồm từ khoảng 10% đến khoảng 99% trọng lượng (ví dụ, khoảng 20%, khoảng 30%, khoảng 40%, khoảng 50%, khoảng 60%, khoảng 70% khoảng 80%, khoảng 90%, khoảng 95%) chế phẩm. Phần trăm cốt liệu cao hơn thường để sử dụng trong khi phần trăm cốt liệu thấp hơn có thể là chế phẩm ở dạng cô đặc để bảo quản hoặc vận chuyển. Tốt hơn là, các vi sinh vật thứ nhất và thứ hai được kết hợp bao gồm từ khoảng 10% đến khoảng 70% trọng lượng hoặc cao hơn (ví dụ, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%,

khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%) chế phẩm. Tỷ lệ phần trăm cao hơn của các thành phần không chứa cốt liệu của chế phẩm thường sử dụng để bảo quản hoặc vận chuyển trong khi tỷ lệ phần trăm thấp hơn của các thành phần không chứa cốt liệu thường sử dụng nhiều hơn. Tốt hơn là, chế phẩm có thể chứa vật liệu không chứa cốt liệu, mà chỉ được bổ sung trước khi sử dụng theo mong muốn cho ứng dụng cụ thể. Thông thường, các vi sinh vật thứ nhất và thứ hai có mặt với số lượng tương đối bằng nhau. Tuy nhiên, trong ứng dụng có lượng lớn canxi cacbonat bị phân rã, vi sinh vật thứ nhất có thể chiếm ưu thế và ngược lại, khi có một lượng lớn canxi cacbonat được tạo ra, vi sinh vật thứ hai có thể chiếm ưu thế. Lượng của mỗi loại có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật khi cần cho mục đích sử dụng cụ thể. Tốt hơn là, chế phẩm chứa khoảng 25% trọng lượng hoặc ít hơn là nước, 20% trọng lượng hoặc ít hơn là nước, 10% trọng lượng hoặc ít hơn là nước, khoảng 5% trọng lượng hoặc ít hơn là nước, hoặc khoảng 2% trọng lượng hoặc ít hơn là nước. Chế phẩm cũng có thể bao gồm các thành phần hỗ trợ sự nảy mầm và/hoặc phát triển của vi sinh vật thứ nhất và/hoặc thứ hai như, ví dụ, chất dinh dưỡng, đường, polysacarit, dung dịch đệm, muối, chất ổn định, chất bảo quản.

Sau khi tạo ra bào tử hoặc tạo ra tế bào sinh dưỡng như mong muốn, các môi trường nuôi cấy được trộn với các hạt cốt liệu. Các hạt cốt liệu có thể bao gồm cát, quặng, đá hoặc đá vụn, khoáng chất, thủy tinh nghiền hoặc vỡ, chất thải từ mỏ, giấy, phế liệu, chất thải từ quá trình sản xuất, nhựa, polyme, vật liệu thô, và/hoặc dạng kết hợp của chúng, và có thể ở dạng viên, hạt, sợi, mảnh, tinh thể, hoặc dạng kết hợp của chúng. Tốt hơn là, các hạt cốt liệu bao gồm các hạt có kích thước mắt lưới là 100 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 150 μm hoặc nhỏ hơn), tốt hơn nữa là có kích thước mắt lưới là 200 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 75 μm hoặc nhỏ hơn), hoặc tốt hơn nữa là có lưới kích thước mắt lưới là 300 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 38 μm hoặc nhỏ hơn).

Tốt hơn là, hỗn hợp nước chứa các bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng và/hoặc cốt liệu được kết hợp với chất liên kết để thúc đẩy sự kết dính hoặc lưu giữ vi sinh vật và cốt liệu. Sự kết dính có thể là giữa các vi sinh vật và cốt liệu nhờ liên kết kỵ nước, liên kết ưa nước, liên kết ion, liên kết không ion, liên kết cộng hóa trị, lực van der Waal hoặc sự kết hợp của chúng. Các chất liên kết bao gồm, nhưng không giới hạn ở,

một hoặc nhiều polyine, sacarit, polysacarit, hydrat cacbon, peptit, protein, axit béo, dầu, axit amin hoặc các dạng kết hợp của chúng. Các chất liên kết được ưu tiên là các chất không độc hại và/hoặc có thể phân hủy sinh học và tốt hơn là vô hại đối với bào tử và không can thiệp hoặc cản trở sự nảy mầm của bào tử hoặc sự tăng sinh của tế bào sinh dưỡng. Ngoài ra, tốt hơn là, chế phẩm không chứa độc tố, chất độc hại hoặc các thành phần có nguy cơ ảnh hưởng đến khả năng sống của vi sinh vật hoặc đến các cá nhân làm việc với chế phẩm hoặc thành phẩm.

Tốt hơn là, thành phần nước và hỗn hợp được loại bỏ bằng cách làm bay hơi và/hoặc lọc như, ví dụ, bay hơi có hỗ trợ nhiệt, lọc có hỗ trợ áp suất và/hoặc lọc có hỗ trợ chân không. Sau khi bay hơi và/hoặc lọc, huyền phù đặc hoặc các hạt cốt liệu và các vi sinh vật chứa trong khoảng từ 10^6 đến khoảng 10^{14} bào tử và/hoặc tế bào/ml, tốt hơn là trong khoảng từ 10^8 đến khoảng 10^{12} , và tốt hơn nữa là trong khoảng từ 10^9 đến khoảng 10^{11} . Thành phần nước có thể được loại bỏ tiếp hoặc loại bỏ hoàn toàn mà không làm cứng bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng và bột hoặc khối khô được bảo quản để sử dụng trong bắt đầu nuôi cấy vi khuẩn sản xuất ureaza trong tương lai.

Vật liệu cốt liệu chứa bào tử có thời hạn sử dụng lâu dài. Tốt hơn là, thời hạn sử dụng tạo ra khả năng sống lớn hơn khoảng 80% (tốt hơn là khoảng 90%, khoảng 95% hoặc khoảng 99%) sau khoảng 3, khoảng 6, khoảng 9 hoặc khoảng 12 tháng bảo quản, hoặc khả năng sống lớn hơn khoảng 80% (tốt hơn là khoảng 90%, khoảng 95%, hoặc khoảng 99%) sau khoảng 1, khoảng 2, khoảng 3 khoảng 4, hoặc khoảng 5 năm bảo quản. Cốt liệu chứa thực vật có thời hạn sử dụng ngắn hơn với khả năng sống lớn hơn khoảng 80% (tốt hơn là khoảng 90%, khoảng 95%, hoặc khoảng 99%) sau khoảng 1, khoảng 2, khoảng 3 khoảng 4, khoảng 5, hoặc khoảng 6 tháng bảo quản.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa cốt liệu chứa bào tử được tạo ra bằng các phương pháp theo sáng chế. Tốt hơn là, các hạt cốt liệu có kích thước mắt lưới là 100 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 150 μm hoặc nhỏ hơn), 200 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 75 μm hoặc nhỏ hơn), hoặc 300 hoặc nhỏ hơn (các hạt có kích thước khoảng 38 μm hoặc nhỏ hơn). Cũng tốt hơn là, chế phẩm chứa chất liên kết hoặc chất lưu giữ. Chất liên kết thúc đẩy sự kết dính giữa các bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng và các hạt cốt liệu và/hoặc chất lưu giữ làm tăng kích thước của các hạt cốt liệu và/hoặc bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng, thúc đẩy quy trình lưu giữ của chúng.

Tốt hơn là, chế phẩm chứa ít hơn khoảng 50% trọng lượng chất lỏng, tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 10% trọng lượng chất lỏng, và tốt hơn nữa là ít hơn khoảng 5% trọng lượng chất lỏng. Các chế phẩm được ưu tiên chứa trong khoảng từ 10^{10} đến khoảng 10^{15} bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng/ml.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng bao gồm bước kết hợp sự hòa tan của canxi cacbonat với vi sinh vật và/hoặc enzym, tiếp theo là bước sử dụng canxi và/hoặc cacbon thu được từ quy trình hòa tan trong sản xuất canxi cacbonat với vi sinh vật và/hoặc enzym. Canxi cacbonat rắn có thể được tạo ra trong ván khuôn hoặc ép đùn mong muốn. Canxi cacbonat ép đùn vẫn giữ được hình dạng cơ bản khi ép đùn hóa rắn theo thời gian thành kết cấu rắn ở độ cứng mong muốn.

Các ví dụ sau đây minh họa các phương án của sáng chế và không nên xem là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sản xuất vi sinh vật để hòa tan canxi cacbonat

Môi trường nuôi cấy chứa *Variovorax*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rathayibacter*, *CellFimi2*, *Streptomyces*, và *Raoultella*. được sản xuất từ các nguồn tự nhiên và từ các môi trường nuôi cấy đã thiết lập thu được từ Trung tâm thu thập môi trường nuôi cấy Mỹ (American Type Culture Collection - ATCC). Các môi trường nuôi cấy được duy trì trong môi trường tối thiểu như dung dịch muối được cân bằng độ pH để duy trì khả năng sống mà không cần thúc đẩy sự tăng sinh hoặc nảy mầm cho đến khi sẵn sàng sử dụng.

Ví dụ 2: Hòa tan canxi cacbonat

Vi sinh vật theo ví dụ 1 được trộn với các dạng rắn của canxi cacbonat tạo ra huyền phù đặc được bổ sung các thành phần để phát triển và tăng sinh (ví dụ, có thể bao gồm đường, sacarit, polysacarit, hydrat cacbon, axit béo, lipid, vitamin, protein, peptit, axit amin, muối, dung dịch đệm pH, khoáng chất và/hoặc các thành phần bổ sung) như mong muốn cho môi trường nuôi cấy cụ thể. Các vi sinh vật hòa tan canxi cacbonat và tạo ra các ion canxi và cacbon tự do.

Ví dụ 3: Sản xuất vi sinh vật để hòa tan canxi cacbonat

Môi trường nuôi cấy chứa *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus*

megaterium, *Helicobacter pylori* được sản xuất từ các nguồn tự nhiên và từ các môi trường nuôi cấy đã thiết lập thu được từ Trung tâm thu thập môi trường nuôi cấy Mỹ (American Type Culture Collection - ATCC). Các môi trường nuôi cấy được duy trì trong môi trường tối thiểu như dung dịch muối được cân bằng độ pH để duy trì khả năng sống mà không cần thúc đẩy sự phát triển hoặc nảy mầm cho đến khi sẵn sàng sử dụng.

Ví dụ 4: Tạo ra canxi cacbonat

Vi sinh vật theo ví dụ 3 được trộn với các ion canxi và cacbon tự do được tạo ra theo ví dụ 2 mà các thành phần được bổ sung để phát triển và tăng sinh (ví dụ, có thể bao gồm đường, sacarit, polysacarit, hydrat cacbon, axit béo, lipid, vitamin, protein, peptit, axit amin, khoáng chất, muối, dung dịch đệm pH và/hoặc các thành phần bổ sung) như mong muốn cho môi trường nuôi cấy cụ thể. Các vi sinh vật tạo ra canxi cacbonat.

Các phương án và mục đích sử dụng khác theo sáng chế sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực liên quan khi xem xét bản mô tả và ứng dụng thực tiễn của sáng chế được bộc lộ ở đây. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn ở đây, bao gồm tất cả các công bố, patent Mỹ và patent nước ngoài và các đơn yêu cầu cấp patent, được đưa hoàn toàn và cụ thể vào đây bằng cách viện dẫn. Thuật ngữ “bao gồm” được sử dụng ở đây nhằm mục đích bao gồm cả thuật ngữ chứa và về cơ bản gồm. Ngoài ra, các thuật ngữ chứa, bao gồm không bị giới hạn. Dự định rằng bản mô tả và các ví dụ chỉ được xem là ví dụ với phạm vi và ý tưởng của sáng chế được chỉ ra trong các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất vật liệu xây dựng canxi cacbonat, phương pháp này bao gồm các bước:

cung cấp môi trường nước chứa các vi sinh vật biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat và các vi sinh vật biểu hiện enzym tạo ra canxi cacbonat, môi trường nước này chứa từ khoảng 10^{10} đến khoảng 10^{15} bào tử và/hoặc tế bào sinh dưỡng/ml vi sinh vật; và

kết hợp môi trường nước này với canxi cacbonat;

thúc đẩy hoạt tính của enzym hòa tan canxi cacbonat để nhờ đó tạo ra các ion canxi và/hoặc cacbon tự do trong dung dịch nước này;

kết hợp môi trường nước này với vật liệu cốt liệu để tạo ra chế phẩm hỗn hợp, trong đó vật liệu cốt liệu bao gồm từ 10 đến 95 phần trăm trọng lượng của chế phẩm hỗn hợp; và

tạo ra bằng enzym canxi cacbonat bằng cách sử dụng các ion canxi và/hoặc cacbon tự do để liên kết cốt liệu của chế phẩm hỗn hợp, nhờ đó tạo ra vật liệu xây dựng canxi cacbonat.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vật liệu xây dựng bao gồm gạch, gạch mỏng, gạch lát vỉa hè, tấm, gạch men, gạch ốp lát, gạch xi, gạch lỗ, gạch bê tông đúc sẵn, gạch clinke hoặc gạch khí chưng áp, phản hoặc mặt bàn, kết cấu thiết kế, khối, kết cấu xây dựng khối đặc, trụ, móng, dầm, tường, hoặc tấm.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật bao gồm vi sinh vật thứ nhất biểu hiện enzym hòa tan canxi cacbonat, và vi sinh vật thứ hai biểu hiện enzym tạo ra canxi cacbonat.

4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó vi sinh vật thứ nhất bao gồm một hoặc nhiều loài, phân loài, chủng, hoặc kiểu huyết thanh của *Alphaproteobacteria*, *Betaprobacteria*, *Gammaprobactreia*, *Firmicutes*, or *Actinobacteria*.

5. Phương pháp theo điểm 3, trong đó vi sinh vật thứ hai bao gồm một hoặc nhiều loài, phân loài, chủng, hoặc kiểu huyết thanh của *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, *Helicobacter pylori*.

6. Phương pháp theo điểm 3, trong đó vi sinh vật thứ nhất và/hoặc vi sinh vật thứ hai bao gồm bào tử.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cốt liệu bao gồm cát, cát được sản xuất, đá nghiền, bê tông nghiền, gạch nghiền, đá vôi, vật liệu silicat hoặc dạng kết hợp của chúng.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cốt liệu bao gồm từ khoảng 10 phần trăm đến khoảng 95 phần trăm, theo trọng lượng, của vật liệu xây dựng.
9. Phương pháp theo điểm 3, trong đó vi sinh vật biểu hiện enzym tạo ra canxi cacbonat bao gồm một hoặc nhiều loài vi sinh vật sản xuất ureaza và/hoặc cacbonic anhydrazaza.
10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vật liệu xây dựng chứa nước với lượng ít hơn 10 phần trăm trọng lượng.