



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

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

(11) 
1-0019703

(51)⁷ **B29B 17/00, C08J 11/00**

(13) **B**

(21)	1-2011-03244	(22)	05.05.2010		
(86)	PCT/MY2010/000070	05.05.2010	(87)	WO2010/134798	25.11.2010
(30)	PI-2009-2081	21.05.2009 MY			
(45)	25.09.2018	366	(43)	25.06.2012	291
(73)	UNIVERSITI SAINS MALAYSIA (MY) 11800 USM, PENANG, MALAYSIA				
(72)	K. Sudesh Kumar A/L C. Kanapathi Pillai (MY)				
(74)	Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ HA VIP (HAVIP CO., LTD.)				

(54) **QUY TRÌNH THU HỒI CÁC POLYESTE**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình thu hồi các polyeste từ sinh khối chứa polyeste bao gồm các bước: cho động vật ăn sinh khối để động vật này bài tiết các viên phân chứa các polyeste; và tách các polyeste này khỏi các viên phân.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình thu hồi các polyeste từ sinh khối chứa polyeste, cụ thể là chiết xuất và làm tinh sạch các hạt polyeste, cụ thể là các polyhydroxyalkanoat (PHAs) từ sinh khối tế bào. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp chiết xuất và làm tinh sạch PHA và các hạt polyeste khác bằng quy trình thu hồi tự nhiên và thân thiện với môi trường áp dụng hệ tiêu hóa của các động vật phù hợp.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các chất dẻo chắc chắn là một trong các vật liệu hữu ích nhất được phát minh bởi con người. Do các tính chất vật liệu đa dạng và độ bền, trọng lượng nhẹ và dễ dàng xử lý, chi phí thấp và tính trơ, nên chất dẻo được ứng dụng phổ biến trong cuộc sống hiện đại. Các chất dẻo thương mại được sản xuất từ các nguồn hóa dầu, các nguồn này không thể tái tạo và sẽ cạn kiệt vào một ngày nào đó. Ngoài ra, các chất dẻo hóa dầu không thể phân hủy sinh học được và do đó không thể được đồng hóa bởi hệ sinh thái tự nhiên của con người. Để giải quyết những vấn đề này cùng với sự nhận thức đầy đủ tầm quan trọng của chất dẻo trong cuộc sống hiện đại của chúng ta, ngày càng có nhiều sự quan tâm đối với chất dẻo có thể phân hủy sinh học có thể được tạo ra từ các nguồn có thể tái tạo.

PHAs và axit polylactic (polylactic acid - PLA) là hai ví dụ về các polyeste gốc sinh học và có thể phân hủy sinh học có các đặc tính dẻo nóng. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên cả hai polyeste gốc sinh học này. Nhiều loại vi sinh vật xuất hiện tự nhiên tạo ra PHAs với các điều kiện của nguồn cacbon dư thừa. PHAs được tích tụ dưới dạng các hạt không tan trong nước trong tế bào chất. Việc sử dụng kỹ thuật di truyền cho phép tạo ra các vi sinh vật tái tổ hợp và thực vật biến đổi gen với khả năng sản xuất các loại PHAs khác nhau. Gần đây, cũng đã chứng minh được rằng các tế bào vi khuẩn tái tổ hợp có thể sản xuất cả PHAs và PLA.

Một thách thức lớn trong việc sản xuất PHAs là chiết xuất và làm tinh sạch PHAs từ sinh khối tế bào. Thông thường, sinh khối tế bào có thể trực tiếp được đưa tới công đoạn chiết xuất PHA bằng cách sử dụng hỗn hợp natri hyperclorua, natri hydroxit

(hoặc kali hydroxit) và axit (chẳng hạn axit clohydric hoặc axit sulfuric) có hoặc không có sự xử lý trước enzym để thủy phân thành tế bào. Các hạt PHA được giải phóng từ các tế bào này sau đó được thu hồi bằng cách ly tâm và sấy khô. Ngoài ra, sinh khối tế bào cũng có thể được đưa tới công đoạn chiết xuất PHA bằng cách sử dụng hỗn hợp các dung môi đặc trưng, mà hòa tan được PHA. Dung dịch dung môi chứa PHA đã hòa tan sau đó được cô đặc và được bổ sung vào dung dịch không phải dung môi dẫn đến làm kết tủa PHA, PHA này sau đó có thể được thu hồi và sấy khô. Quy trình chiết xuất dung môi sau sẽ làm cho PHA có trọng lượng phân tử khá cao trong khi phương pháp chiết xuất dung dịch nước trước có sử dụng natri hyperclorua làm cho PHA có trọng lượng phân tử thấp hơn do các điều kiện có tính axit và kiềm làm phá vỡ các phân tử PHA. Cả hai quy trình này không chỉ tốn thời gian và tiền bạc mà còn không thân thiện với môi trường. Các quy trình chiết xuất làm cho PHAs có khả năng thân thiện với môi trường tốn chi phí cao hơn so với chất dẻo hóa dầu. Ngoài ra, các quy trình này còn cần đến nhiều năng lượng và dẫn đến sự phát thải cacbon dioxit và các chất gây ô nhiễm môi trường khác, chẳng hạn nước thải nhiễm axit, bazơ, hóa chất và dung môi.

Có một số công nghệ đã bộc lộ trong các giải pháp kỹ thuật đã biết đề cập đến phương pháp chiết xuất hoặc thu hồi PHAs từ sinh khối. Tất cả các công nghệ được báo cáo cho đến nay trong các giải pháp kỹ thuật đã biết này vẫn dựa vào việc sử dụng các dung môi và/hoặc hóa chất, các phương pháp này làm cho các PHAs thu được không thân thiện với môi trường.

Đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2006105440 đề cập đến phương pháp sản xuất PHA bằng cách chiết xuất, tách và làm tinh sạch PHA từ sinh khối chứa PHA có khối lượng phân tử trung bình lớn hơn 2000000. Sinh khối được làm nóng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 500°C trước khi dung môi hữu cơ aprotic được bổ sung vào trong sinh khối. Sinh khối có thể tiếp tục được làm nóng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 200°C. Dung môi aprotic cũng có thể được sử dụng cùng với nước và/hoặc rượu. Phương pháp này có khả năng sản xuất PHA với khả năng hoạt động tốt, tuy nhiên việc xử lý các dung môi hữu cơ aprotic là cần thiết.

Đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2005222373 cũng đề cập đến phương pháp sản xuất tinh thể PHA. Phương pháp này bao gồm bước trộn dung dịch PHA trong một dung môi tốt với một dung môi xấu ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 130°C

để làm kết tủa PHA. Tinh thể PHA ở thể lỏng thường khó thu được thì nay có thể được sản xuất bằng phương pháp này. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn còn áp dụng việc chiết xuất dung môi, trong đó yêu cầu các hóa chất cụ thể.

Patent Mỹ số US5918747 cũng bộc lộ quy trình thu hồi PHAs bằng cách sử dụng phương pháp chưng cất phân đoạn ly tâm từ nguyên liệu có nguồn gốc sinh học. Quy trình này bao gồm các bước nghiền nguyên liệu có nguồn gốc sinh học trong chất lỏng, phân tách PHA khỏi các thành phần khác của nguyên liệu có nguồn gốc sinh học bằng phương pháp chưng cất phân đoạn ly tâm để có được sự chia tách chất rắn-chất rắn và thu hồi PHA. Mặc dù bước ly tâm được thêm vào để tạo thuận lợi cho sự chia tách chất rắn-chất rắn, nhưng vẫn cần đến các hóa chất khác, chẳng hạn các dung môi cacbon được clo hóa và các dung môi hữu cơ ở thể lỏng.

Quy trình thu hồi PHA bằng cách sử dụng phương pháp tách bằng không khí cũng đã được bộc lộ trong patent Mỹ số US5849854. Phương pháp này bao gồm bước nghiền nguyên liệu có nguồn gốc sinh học, nguyên liệu có nguồn gốc sinh học được tách bằng không khí sao cho các hạt PHA được tách ra khỏi các thành phần khác của nguyên liệu có nguồn gốc sinh học, và thu hồi PHA. Quy trình này vẫn yêu cầu cần có một chất lỏng thích hợp và cũng cần thực hiện một vài bước chưng cất phân đoạn trước khi thu được PHA.

Công bố đơn quốc tế số WO2006103699 cũng đề cập đến quy trình chiết xuất PHA từ vi khuẩn bằng cách sử dụng phương pháp nuôi cấy xạ khuẩn lytic tế bào thương mại có sẵn. Vi khuẩn để sản xuất PHA được nuôi cấy trong khoảng thời gian từ 2 đến 3 ngày và được đun nóng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 80°C, trước khi việc nuôi cấy xạ khuẩn được bổ sung vào quy trình nuôi cấy vi khuẩn. PHA được thu hồi bằng dung môi không thể trộn lẫn nước hoặc chất hoạt động bề mặt và chất cang hóa.

Hầu hết các công nghệ được bộc lộ trong các giải pháp kỹ thuật đã biết đều dựa trên khái niệm chiết xuất dung môi và yêu cầu các kỹ thuật phức tạp khác nhau. Dựa trên những điều trên đây, rõ ràng là có nhu cầu cần một quy trình đơn giản, tự nhiên và tiết kiệm để thu hồi PHAs và các nguyên liệu polyeste khác từ sinh khối.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích chính của sáng chế là đề xuất quy trình cải tiến và đơn giản cho việc

chiết xuất và làm tinh sạch PHAs và các polyeste khác từ các nguồn sinh học.

Mục đích khác của sáng chế là để phát triển quy trình chiết xuất và làm tinh sạch các hạt polyeste, cụ thể là PHAs từ các tế bào vi khuẩn mà không cần sử dụng các dung môi hữu cơ, phương pháp này hoàn toàn tự nhiên, thân thiện với môi trường và tiết kiệm chi phí.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất quy trình thu hồi các hạt polyeste bằng cách áp dụng hệ tiêu hóa của các động vật thích hợp.

Ít nhất một trong các mục đích trên đây được đáp ứng, toàn bộ hoặc một phần, bởi sáng chế, trong đó một trong các phương án của sáng chế là quy trình thu hồi các polyeste từ sinh khối chứa polyeste, bao gồm bước cho động vật ăn sinh khối để bài tiết ra viên phân chứa các polyeste; và tách các polyeste này khỏi các viên phân; trong đó: các polyeste cụ thể là PHAs hoặc PLA. Tốt hơn là, PHAs là poly(3-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxybutyrat-co-4-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxyhexanoat-co-3-hydroxyoctanoat-co-3-hydroxydecanoat-co-3-hydroxydodecanoat-co-3-hydroxytetradecanoat) hoặc sự kết hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều hơn các chất nói trên.

Phương án ưu tiên khác của sáng chế bộc lộ sinh khối thu được từ sinh vật chứa polyeste, cụ thể là PHAs. Tốt hơn là, sinh khối thu được từ thực vật, tảo, vi khuẩn lam, vi khuẩn hoặc sự kết hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều hơn các loài nói trên.

Phương án ưu tiên khác nữa của sáng chế bộc lộ động vật trong phương án của sáng chế là động vật gặm nhấm, dê, cừu, bò, chim hoặc sinh vật dưới nước.

Phương án khác nữa của sáng chế bộc lộ quy trình thu hồi polyeste từ sinh khối chứa polyeste còn bao gồm bước tạo sinh khối thành thức ăn chăn nuôi trước khi cho động vật ăn. Tốt hơn là, sinh khối đã qua công đoạn xử lý nhiệt trước khi được tạo thành thức ăn chăn nuôi.

Phương án khác nữa của sáng chế là quy trình thu hồi polyeste từ sinh khối chứa polyeste còn bao gồm bước làm tinh sạch polyeste từ các viên phân. Các polyeste này có thể được làm tinh sạch bằng cách tách các thành phần có thể hòa tan trong nước

từ các thành phần có chứa polyester không tan trong nước bên trong các viên phân.

Phương án khác nữa của sáng chế là quy trình thu hồi các polyeste từ sinh khối chứa polyeste còn bao gồm bước làm khô các polyeste đã thu hồi. Bước ép thành hạt polyeste sau khi làm khô có thể cũng được thực hiện theo phương án ưu tiên của sáng chế.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng hiểu rõ sáng chế thích hợp để thực hiện các mục đích trên và đạt được các kết quả và ưu điểm đã đề cập, cũng như những đặc điểm vốn có trong sáng chế. Các phương án được mô tả ở đây không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Để hiểu sáng chế một cách dễ dàng, sáng chế được minh họa có dựa vào các hình vẽ kèm theo và các phương án ưu tiên qua phần mô tả sau đây, sáng chế, cấu trúc, hoạt động và các ưu điểm của sáng chế sẽ dễ dàng được hiểu và đánh giá.

Fig. 1 thể hiện hình thái học của các tế bào *Cupriavidus necator*, một trong các ví dụ của các tế bào vi khuẩn được sử dụng cho việc sản xuất PHAs như mô tả thông qua một trong các phương án ưu tiên của sáng chế, ở giai đoạn đầu của sự nuôi cấy (a), ngay trước khi thu hoạch (b) và sau khi sấy lạnh (c). Các hình ảnh nuôi cấy và thu hoạch là các hình ảnh được nhìn qua kính hiển vi pha sáng tương phản phóng đại 1000 lần, trong khi hình ảnh của các tế bào được sấy lạnh được chụp bằng máy ảnh kỹ thuật số; và

Fig. 2 là hình thái học và hàm lượng PHA trong viên phân của những con chuột, một trong các ví dụ về động vật được sử dụng để thu hồi PHAs như đã mô tả thông qua một trong các phương án ưu tiên của sáng chế, chúng đã ăn các tế bào đã sấy lạnh được thể hiện trên Fig. 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến quy trình chiết xuất và làm tinh sạch PHA cũng như các hạt polyeste khác từ sinh khối tế bào. Cụ thể hơn là, sáng chế đề xuất phương pháp chiết xuất và làm tinh sạch PHA và các hạt polyeste khác bằng quy trình tự nhiên và thân thiện với môi trường, áp dụng hệ tiêu hóa của các động vật phù hợp.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả theo các phương án ưu tiên của sáng chế và tham chiếu đến các hình vẽ và phần mô tả kèm theo. Tuy nhiên, cần hiểu rằng việc giới hạn phần mô tả đối với các phương án ưu tiên của sáng chế và các hình vẽ chỉ đơn thuần giúp dễ dàng thảo luận sáng chế và hiển nhiên là những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể đưa ra những thay đổi khác nhau mà không vượt quá phạm vi yêu cầu bảo hộ.

Sáng chế bộc lộ quy trình thu hồi polyeste từ sinh khối chứa polyeste bao gồm bước: cho động vật ăn sinh khối để động vật bài tiết ra các viên phân chứa các polyeste; và tách các polyeste từ các viên phân này.

Quy trình được bộc lộ trong sáng chế là quy trình sinh học hoàn toàn tự nhiên rất hữu ích cho việc chiết xuất và tinh sạch polyeste không tan trong nước từ sinh khối tế bào. Quy trình chỉ đơn thuần áp dụng hệ tiêu hóa tự nhiên của động vật phù hợp mà không cần sử dụng bất kỳ hoá chất hoặc các dung môi nào khác cho việc thu hồi các polyeste. Vì vậy, PHAs thu được thực sự có nguồn gốc sinh học và có khả năng đáp ứng yêu cầu đối với nguyên liệu polyeste thân thiện với môi trường và hiệu quả kinh tế.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rõ thực tế rằng sinh khối được sử dụng được bắt nguồn từ sinh vật có chứa polyeste, cụ thể là PHAs. Những sinh vật này có khả năng sản xuất và tích tụ PHAs tự nhiên. Tốt hơn là, sinh vật là thực vật, tảo, vi khuẩn lam, vi khuẩn hoặc sự kết hợp của hai hay nhiều hơn các loài nói trên. Việc sản xuất PHAs theo quy mô thương mại bao gồm nuôi cấy một lượng lớn vi sinh vật, chẳng hạn như vi khuẩn hoặc tế bào vi khuẩn lam trong lò phản ứng sinh học. Các tế bào tốt nhất là được nuôi bằng các chất dinh dưỡng tăng trưởng cũng như các nguồn cacbon để tổng hợp PHAs. Trong quá trình lên men điển hình, lượng PHAs được tích tụ nhờ các tế bào có thể lên đến 80% khối lượng của khối lượng khô của tế bào. Các nguồn cacbon có thể được sử dụng cho việc tổng hợp PHAs bao gồm các loại đường (chẳng hạn như fructoza), các loại dầu thực vật (như dầu đậu tương và dầu cọ) và các sản phẩm phụ nông lâm trong các loại chất nền khác. Quá trình lên men mất khoảng từ 36 đến 60 giờ sau đó các tế bào được thu hoạch bằng phương pháp ly tâm hoặc được phép tích tụ tự nhiên thành sinh khối tế bào cô đặc.

Trong sáng chế, sinh khối tế bào chứa polyeste có thể được cấp trực tiếp cho

động vật phù hợp ăn. Theo phương án ưu tiên của sáng chế, quy trình được bộc lộ có thể còn bao gồm bước đưa sinh khối vào công thức thức ăn chăn nuôi trước khi cho động vật ăn. Ban đầu, sinh khối tế bào, có thể là bột nhão tế bào uớt thu được ở cuối quá trình lên men điển hình của sinh vật được sử dụng làm thành phần để được đưa vào công thức thức ăn chăn nuôi. Tốt hơn là, sinh khối tế bào là nguồn dinh dưỡng (protein và lipid) cho các loài động vật. Lý tưởng nhất, sinh khối tế bào tốt nhất là protein đơn bào (single cell protein - SCP) chứa PHAs. Tốt hơn là, sinh khối được đưa qua công đoạn xử lý nhiệt trước khi được đưa vào trong thức ăn chăn nuôi. Bên cạnh đó bột nhão tế bào uớt cô đặc, thức ăn chăn nuôi theo công thức có thể còn bao gồm tinh bột và bột đậu tương. Hỗn hợp này sau đó có thể được ép thành dạng viên khô trước khi cho động vật ăn.

Theo phương án ưu tiên của sáng chế, động vật phù hợp được sử dụng là động vật gặm nhấm, dê, cừu, bò, chim hoặc sinh vật dưới nước. Tuy nhiên, sáng chế không có ý định giới hạn sử dụng các loài động vật có sẵn thích hợp khác, nếu động vật có khả năng bài tiết PHAs hoặc các hạt polyeste khác trong các viên phân sau khi ăn PHAs hoặc polyeste chứa sinh khối từ chế độ ăn hàng ngày của chúng hoặc thức ăn chăn nuôi theo công thức.

Hệ tiêu hóa của các động vật phù hợp có khả năng thủy phân nguyên liệu sinh khối nhờ sử dụng các enzym khác nhau sẵn có trong đường tiêu hóa. Những enzym này đặc biệt có thể phân hóa hoặc thủy phân protein, chất béo và cacbohydrat thành các phân tử nhỏ tan trong nước bao gồm các axit amin, axit béo, glucoza mà cuối cùng được hấp thụ như các chất dinh dưỡng. Những hợp chất không thể được thủy phân chẳng hạn như PHAs sẽ được thải ra ngoài. Đường tiêu hóa của động vật có thể chứa các vi sinh vật có enzym cụ thể cho quá trình thủy phân PHAs. Tuy nhiên, thời gian lưu giữ của các tế bào với PHAs trong đường tiêu hóa của động vật quá ngắn để PHA có thể được thủy phân đáng kể.

Quá trình thủy phân sẽ giải phóng các hạt polyeste không tan trong nước từ sinh khối tế bào. Các thành phần lipid và protein của các tế bào bị thủy phân tự nhiên và hấp thụ bởi đường tiêu hóa của động vật. Trong khi đó, các hạt polyeste không tan trong nước chẳng hạn PHAs còn nguyên vẹn vì không chứa enzym phù hợp trong đường tiêu hóa của động vật vốn có khả năng thủy phân các hạt này. Khi các hạt đi qua đường tiêu hóa của động vật, các hạt bị cô đặc tự nhiên và được bài tiết ở dạng viên phân. Do

đó, các viên phân rất giàu PHA hoặc các hạt polyeste khác.

Sau đó, các viên phân này có thể được gom từ các động vật phù hợp càng sớm càng tốt ngay sau ngày thức ăn chứa PHA hoặc hạt polyeste được tiêu thụ hết. Tùy thuộc vào loại động vật và môi trường nơi các viên phân được phân phối, quá trình tinh sạch PHA hoặc hạt polyeste từ các viên phân tiếp theo có thể được thay đổi từ 1 ngày đến hơn 6 tháng. Các viên phân của những con chuột, ví dụ, có hàm lượng PHA lớn hơn 80% khối lượng có thể được lưu giữ trong nhiều năm trước khi đến bước xử lý tiếp theo.

Các viên đã thu gom cũng có thể được sử dụng trực tiếp như nhựa dẻo cho các ứng dụng nhất định chẳng hạn như lớp phủ và túi cây giống. Đối với PHAs độ tinh khiết cao hoặc các hạt polyeste khác, các viên phải được đưa vào quá trình tinh sạch tiếp theo, trong đó chúng có thể được đồng nhất và rửa sạch bằng nước lạnh hoặc nóng. Quá trình rửa này loại bỏ các thành phần hòa tan trong nước khỏi các hạt PHA. Cuối cùng, các hạt PHA đã rửa có màu trắng và tinh khiết có thể được thu hồi bằng các phương pháp khác nhau chẳng hạn lọc, ly tâm và/hoặc lắng. Quá trình rửa này có thể thay được đổi tùy thuộc vào loại động vật được sử dụng và số lượng hạt PHA trong viên của chúng cũng như ứng dụng mục đích của PHA.

Theo phương án khác nữa của sáng chế, bước làm khô polyeste được thu hồi cũng có thể được thực hiện. Bước này được thực hiện sau bước ép thành hạt polyeste sau khi sấy khô. Quá trình chiết xuất và làm tinh sạch hoàn chỉnh có thể được thực hiện ở điều kiện môi trường xung quanh. Quá trình này cũng có thể được kết hợp với các quá trình chiết xuất và làm tinh sạch dung môi và/hoặc hóa chất thông thường để loại bỏ các dấu tích của protein và chất béo mà vẫn có thể cùng tồn tại với các hạt PHA. Trong trường hợp này, số lượng của các dung môi và/hoặc các hóa chất sẽ được giảm đáng kể so với các phương pháp mà chỉ dựa vào dung môi và/hoặc hóa chất.

Loại polyeste chính được thu hồi hoặc thu được từ quy trình này là PHAs và PLAs. Tốt hơn là, PHAs là poly(3-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxybutyrat-co-4-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxyhexanoat-co-3-hydroxyoctanoat-co-3-hydroxydecanoat-co-3-hydroxydodecanoat-co-3-hydroxytetradecanoat) hoặc sự kết

hợp của bất kỳ hai hoặc nhiều chất nói trên.

Việc phân tích được tiến hành sau khi chiết xuất và làm tinh sạch PHAs cho thấy rằng quy trình được bộc lộ có khả năng đạt được từ 50% đến 95% hàm lượng PHA theo trọng lượng.

Phần bộc lộ bao gồm các điểm yêu cầu bảo hộ và phần mô tả trước đó. Mặc dù sáng chế đã được mô tả dưới dạng phương án ưu tiên với mức độ cụ thể, nhưng cần hiểu rằng phần bộc lộ này của phương án ưu tiên đã được thực hiện thông qua việc ví dụ và có thể phải dùng đến các thay đổi ở dạng chi tiết về mặt cấu trúc, kết hợp và bố trí các phần và không vượt quá phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ được đưa ra dưới đây để minh họa các khía cạnh khác nhau và các phương án ưu tiên của sáng chế. Ví dụ này được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa, không được hiểu là những giới hạn của sáng chế bởi vì sáng chế có thể có nhiều biến thể mà không vượt ra khỏi phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Chủng vi khuẩn được sử dụng để sản xuất PHAs là *C. necator* H16. *C. necator* được chọn bởi vì nó là chủng đã được sử dụng rộng rãi và cho thấy không có dấu hiệu khả năng gây bệnh. Ngoài ra, chủng này ban đầu được phát triển như một nguồn protein đơn bào (single cell protein - SCP) trong những năm 1970. *C. necator* sẽ sinh trưởng trong vòng 24 giờ trong môi trường giàu chất dinh dưỡng (nutrient-rich - NR) ở 30°C. Môi trường chế phẩm để chủng được lập bảng trong Bảng 1.

Bảng 1

Nguyên liệu	Số lượng
Pepton	10 g/L
Chiết xuất thịt	10 g/L
Chiết xuất nấm men	2 g/L

Các vi khuẩn tiền nuôi cấy được sinh trưởng trong môi trường NR từ 12 đến 24 giờ ở 30°C và 3% (v/v) của chủng được chuyển vào môi trường muối khoáng (mineral salts medium - MM), và được ủ ở 30°C. 1 lít MM đã được điều chế bằng cách cho 2,8 g KH_2PO_4 , 3,32 g Na_2HPO_4 và 0,54 g ure vào nước cất. Môi trường được sử dụng cho việc sinh tổng hợp poly(3-hydroxybutyrat) [P(3HB)] được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2

Nguyên liệu	Số lượng
Ure	4 g/L
Na_2HPO_4	332 g/L
KH_2PO_4	2,8 g/L
CPKO	40 g/L
NH_4OH	60 mL
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,1 g/L
Các nguyên tố vi lượng	1,5 mL/L

Dung dịch các nguyên tố vi lượng như được thể hiện trong Bảng 3 được bổ sung vào MM. Thành phần gốc của dung dịch các nguyên tố vi lượng được đo bằng g/L trong 0,1 N HCl. Các chất dầu sau đó được hấp riêng biệt và được cho vào MM. Ở cuối của quá trình nuôi cấy (60 giờ), các tế bào đã được thu hoạch bằng phương pháp ly tâm ở 10.000×g trong 10 phút và được sấy lạnh.

Bảng 3

Nguyên liệu	Số lượng
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,22 g/L
FeCl_3	9,7 g/L

CaCl ₂	7,8 g/L
NiCl ₂ .6H ₂ O	0,12 g/L
CrCl ₃ .6H ₂ O	0,11 g/L
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,16 g/L

Bảng 4 thể hiện sự sản xuất P(3HB) bằng các tế bào *C. necator* từ hai loại sản phẩm dầu cọ. Các tế bào được ủ trong 60 giờ ở 30°C, được sấy lạnh và được sử dụng trực tiếp làm thức ăn chăn nuôi. Hàm lượng của P(3HB), loại PHAs được thu hồi từ các tế bào đã sấy lạnh trong ví dụ này cũng được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4

Dầu thực vật (g L ⁻¹)	Tổng P(3HB) (g L ⁻¹)	Trọng lượng khô tế bào (g L ⁻¹)	Hàm lượng ^b P(3HB) (% khối lượng)
Dầu hạt cọ	7,2	8,6	84
Cọ olein	6,1	7,8	79

Fig. 1 thể hiện sự biến đổi của các tế bào *C. necator* trước và sau khi tích tụ các hạt PHA. Các tế bào chứa lượng lớn PHAs dưới dạng các hạt béo hơn và trong suốt trong các tế bào. Các tế bào đã sấy lạnh có hình thái học dạng dẹt với mùi trái cây khi các tế bào đã được nuôi cấy trong môi trường khoáng với dầu cọ là nguồn cacbon duy nhất.

Các tế bào đã sấy lạnh sau đó được định lượng và số lượng đã biết được bỏ vào trong đĩa cấy vi khuẩn để được những con chuột tự ý tiêu thụ. Máy quay được bố trí để giám sát và xác nhận rằng các tế bào đã sấy lạnh đã thực sự được những con chuột ăn. Thí nghiệm này được thực hiện liên tục trong một khoảng thời gian từ 6 đến 12 tháng. Kết quả ghi nhận rằng những con chuột đã thể hiện sự ưu tiên cao cho các tế bào đã sấy lạnh.

Các viên phân của những con chuột sau đó được thu gom từ những nơi khác nhau trong vùng lân cận của khu vực cho ăn. Những viên phân này dễ dàng được tìm thấy, chúng thường có màu trắng hoặc màu xám. Các viên phân đã thu gom được đưa qua các phân tích khác nhau, kết quả cho thấy có từ 50% đến 100% phần khối lượng PHA. Fig. 2 minh họa hàm lượng trong các viên phân của những con chuột đã ăn P(3HB) chứa các tế bào đã sấy lạnh.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình thu hồi các polyeste từ sinh khối chứa polyeste bao gồm các bước:

cho động vật ăn sinh khối để động vật này bài tiết ra các viên phân chứa các polyeste; và

tách các polyeste này khỏi các viên phân;

trong đó: các polyeste này là các polyhydroxyalkanoat hoặc poly(axit lactic), các polyhydroxyalkanoat hoặc poly(axit lactic) này có thể phân hủy sinh học được và là các polyeste nền sinh học có các đặc tính của nhựa nhiệt dẻo, các polyhydroxyalkanoat này được tích tụ ở dạng các hạt nhỏ không tan trong nước trong tế bào chất.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó các polyhydroxyalkanoat là poly(3-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxybutyrat-co-4-hydroxybutyrat), poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat-co-3-hydroxyhexanoat), poly(3-hydroxyhexanoate-co-3-hydroxyoctanoat-co-3-hydroxydecanoat-co-3-hydroxydodecanoat-co-3-hydroxytetradecanoat) hoặc hỗn hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều hơn các chất nói trên.

3. Quy trình theo điểm 1, trong đó sinh khối thu được từ thực vật, vi khuẩn hoặc hỗn hợp của bất kỳ hai hoặc nhiều hơn các loại nói trên.

4. Quy trình theo điểm 3, trong đó thực vật là tảo.

5. Quy trình theo điểm 4, trong đó tảo là vi khuẩn lam.

6. Quy trình theo điểm 1, trong đó động vật là loài động vật gặm nhấm.

7. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước tạo sinh khối thành thức ăn chăn nuôi trước khi cho động vật ăn sinh khối.

8. Quy trình theo điểm 7, trong đó sinh khối được đưa vào xử lý nhiệt trước khi được tạo thành trong thức ăn chăn nuôi.

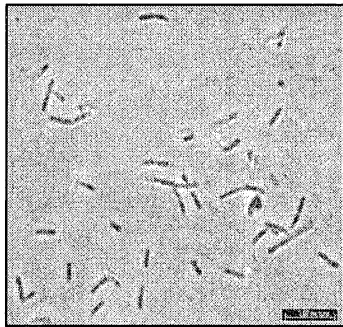
9. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước làm tinh sạch các polyeste từ các viên phân.

10. Quy trình theo điểm 9, trong đó các polyeste được làm tinh sạch bằng cách loại bỏ

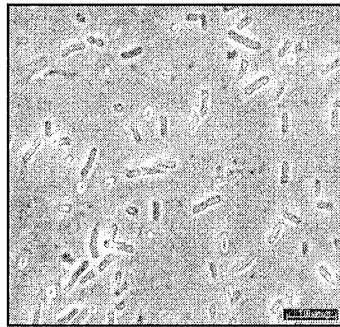
các thành phần hòa tan trong nước khỏi các thành phần chứa polyeste không tan trong nước trong các viên phân.

11. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước sấy khô các polyeste đã thu hồi được.

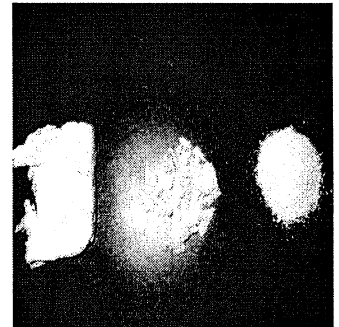
12. Quy trình theo điểm 11, trong đó quy trình này còn bao gồm bước ép các polyeste sau khi sấy khô thành viên.



(a)



(b)



(c)

Fig. 1

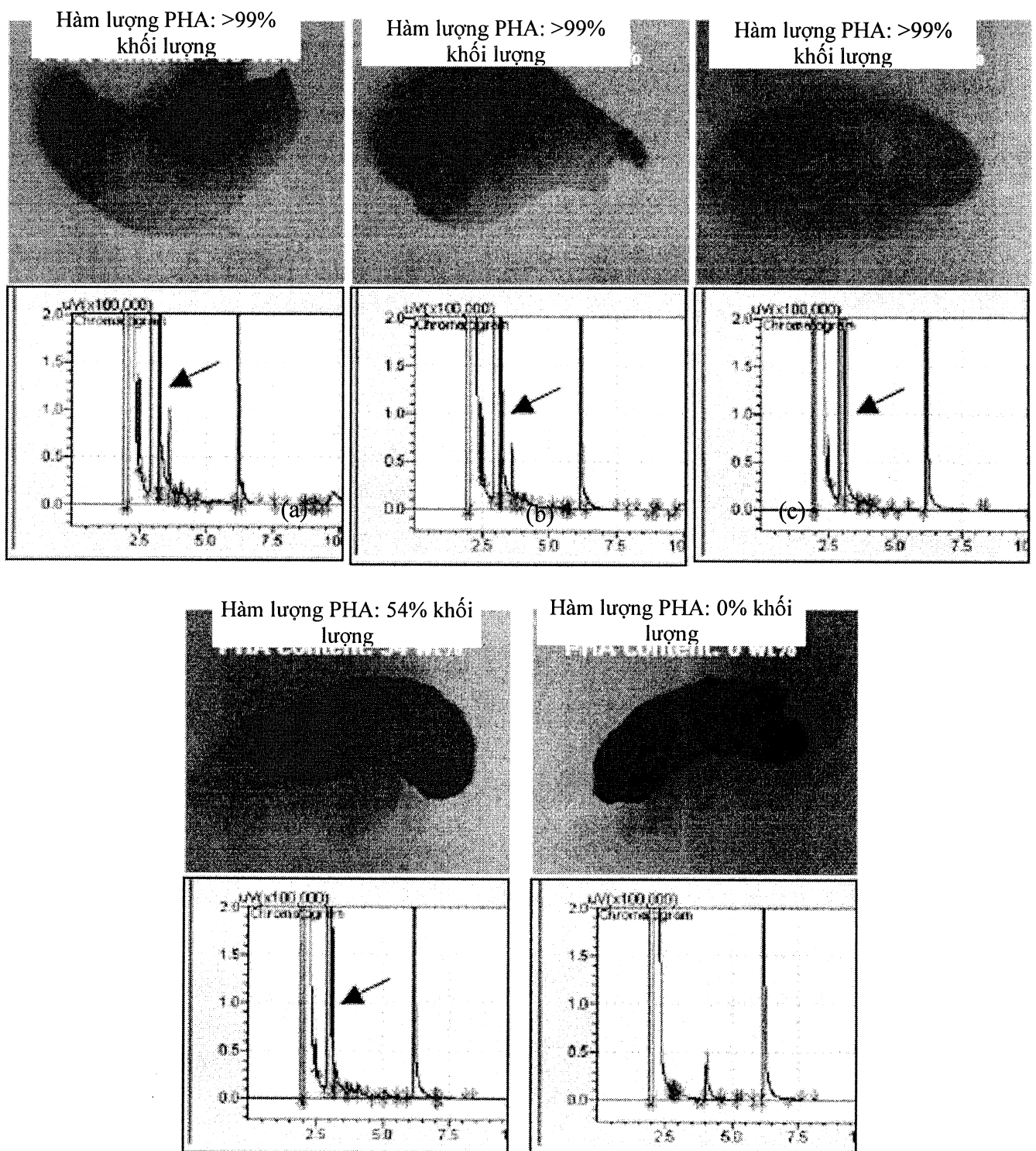


Fig. 2