

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 971**

51 Int. Cl.:  
**C08G 63/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05793090 .1**
- 96 Fecha de presentación: **06.09.2005**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1802681**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.07.2007**

54 Título: **MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE POLÍMEROS EN UN ÚNICO DISOLVENTE.**

30 Prioridad:  
**13.09.2004 US 609280 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**07.03.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**07.03.2012**

73 Titular/es:  
**METABOLIX, INC.  
21 ERIE STREET  
CAMBRIDGE, MA 02139, US**

72 Inventor/es:  
**ANDERSON, Erik;  
LICATA, John y  
WALSEM, Johan van**

74 Agente/Representante:  
**Lehmann Novo, Isabel**

ES 2 375 971 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos de extracción de polímeros en un único disolvente

### Referencia cruzada a una solicitud relacionada

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de EE. UU. con N.º de Serie 60/609280, presentada el 13 de septiembre de 2004.

### Campo técnico

Esta invención se refiere a métodos de extracción de polímeros.

### Antecedentes

10 Un polihidroxialcanoato ("PHA") se puede extraer de biomasa que posee células que contienen el PHA. Generalmente, este proceso implica combinar la biomasa con un disolvente para el PHA y, a continuación, calentar y agitar. Habitualmente, esto proporciona un sistema bifásico, en el que una fase es una solución que contiene el disolvente y el PHA, y la otra fase contiene biomasa residual con células que contienen una cantidad reducida de PHA. Normalmente, se separan las dos fases y posteriormente el PHA se separa del disolvente.

### Resumen

15 La invención se refiere a métodos de extracción de polímeros como los descritos en las reivindicaciones adjuntas.

También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, siendo el primer disolvente capaz de formar un azeótropo con el segundo disolvente; y calentar la combinación para formar el azeótropo del primer y el segundo disolvente.

20 También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, siendo el primer disolvente capaz de formar un azeótropo con el segundo disolvente; y después de formar la combinación, formar gránulos del PHA.

25 También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, teniendo el primer disolvente un punto de ebullición mayor que el segundo disolvente; y calentar la combinación hasta una temperatura inferior al punto de ebullición del segundo disolvente para separar al menos parte del PHA de la combinación.

También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, teniendo el primer disolvente un punto de ebullición mayor que el segundo disolvente; y calentar la combinación hasta una temperatura inferior al punto de ebullición del segundo disolvente para eliminar sustancialmente el primer disolvente de la combinación.

30 También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, siendo el primer disolvente capaz de formar un azeótropo con el segundo disolvente; calentar la combinación para formar una mezcla gaseosa que comprende el primer y el segundo disolvente; y condensar la mezcla gaseosa para formar un líquido que comprende una primera y una segunda fase, estando la primera fase del líquido sustancialmente exenta del primer disolvente, y estando la segunda fase del líquido sustancialmente exenta del segundo disolvente.

35 También se describe un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente y un segundo disolvente para formar una combinación, teniendo el primer disolvente un punto de ebullición mayor que el segundo disolvente; calentar la combinación para formar una mezcla gaseosa que comprende el primer y el segundo disolvente; y condensar la mezcla gaseosa para formar un líquido que comprende una primera y una segunda fase, estando la primera fase del líquido sustancialmente exenta del primer disolvente, y estando la segunda fase del líquido sustancialmente exenta del segundo disolvente.

Las realizaciones de los métodos descritos anteriormente pueden incluir una o más de las siguientes características.

45 El primer disolvente se puede seleccionar del grupo conformado por MIBK, acetato de butilo, acetato de etilo, ciclopentanona y ciclohexanona. En ciertas realizaciones, el primer disolvente es MIBK.

El segundo disolvente puede incluir agua.

Calentar la combinación puede eliminar sustancialmente el primer disolvente de la combinación.

El azeótropo se puede formar a una temperatura inferior al punto de ebullición del primer disolvente e inferior al

punto de ebullición del segundo disolvente.

El método puede incluir además formar gránulos de PHA. Los gránulos de PHA tienen una densidad aparente de al menos aproximadamente  $0.25 \text{ kg/m}^3$ .

5 El método puede incluir combinar el PHA y el primer disolvente, antes de calentar, para formar una primera combinación; y combinar la primera combinación con el segundo disolvente para formar la combinación.

El método puede incluir calentar la combinación, antes de formar los gránulos de PHA, para eliminar sustancialmente el primer disolvente, y de esta manera formar una segunda combinación que comprende el PHA y el segundo disolvente; y reducir la temperatura de la segunda combinación.

El primer disolvente puede ser capaz de formar un azeótropo con el segundo disolvente.

10 Calentar la combinación puede formar el azeótropo del primer y el segundo disolvente.

La combinación se puede calentar hasta una temperatura inferior a un punto de ebullición del primer disolvente e inferior a un punto de ebullición del segundo disolvente.

La combinación se puede calentar hasta una temperatura inferior a un punto de ebullición del primer disolvente e inferior a un punto de ebullición del segundo disolvente.

15 Se describe además un método para aislar un PHA, el método incluye: combinar el PHA, un primer disolvente, un segundo disolvente y un tercer disolvente para formar una combinación, siendo el primer y el tercer disolvente capaces de formar un azeótropo con el segundo disolvente; y después de formar la combinación, formar los gránulos de PHA.

Las realizaciones de este método que se ha descrito pueden incluir una o más de las siguientes características.

20 Calentar la combinación puede eliminar sustancialmente el primer disolvente y el tercer disolvente de la combinación.

Calentar la combinación puede formar un azeótropo ternario del primer disolvente, el segundo disolvente y el tercer disolvente.

25 Calentar la combinación puede formar un azeótropo binario del primer disolvente y del segundo disolvente, y un azeótropo binario del segundo disolvente y el tercer disolvente.

El azeótropo se puede formar a una temperatura inferior al punto de ebullición del primer disolvente, inferior al punto de ebullición del segundo disolvente e inferior al punto de ebullición del tercer disolvente.

El primer disolvente se puede seleccionar del grupo conformado por MIBK, acetato de butilo, acetato de etilo, ciclopentanona y ciclohexanona. En ciertas realizaciones, el primer disolvente puede ser MIBK.

30 El primer disolvente puede ser miscible con el tercer disolvente.

La proporción del tercer disolvente respecto al primer disolvente puede ser inferior a aproximadamente 0.10.

El PHA puede tener una solubilidad en el tercer disolvente inferior a aproximadamente un 0.2 por ciento del PHA a  $20^\circ\text{C}$ .

El tercer disolvente puede incluir *n*-heptano.

35 El segundo disolvente puede incluir agua.

Los gránulos de PHA pueden tener una densidad aparente de al menos aproximadamente  $0.25 \text{ kg/m}^3$ .

El método puede incluir calentar la combinación, antes de formar los gránulos de PHA, para eliminar sustancialmente el primer disolvente y el tercer disolvente, y de esta manera formar una segunda combinación que comprende el PHA y el segundo disolvente; y reducir la temperatura de la segunda combinación.

40 El método puede incluir combinar el PHA, el primer disolvente y el tercer disolvente, antes de calentar, para formar una primera combinación; y combinar la primera combinación con el segundo disolvente para formar la segunda combinación.

45 El método puede incluir calentar la combinación (p. ej., a una temperatura inferior al punto de ebullición del primer disolvente, inferior al punto de ebullición del segundo disolvente e inferior al punto de ebullición del tercer disolvente) para formar una mezcla gaseosa que comprende el primer, el segundo y el tercer disolvente; y condensar la mezcla

gaseosa para formar un líquido que comprende la primera y la segunda fase, estando la primera fase del líquido sustancialmente exenta del primer y el tercer disolvente, y estando la segunda fase del líquido sustancialmente exenta del segundo disolvente.

5 Otras realizaciones de los métodos descritos pueden incluir una o más de las características que se describen en otros contextos.

En algunas realizaciones de los métodos descritos, un disolvente utilizado para extraer un PHA puede tener un punto de ebullición mayor que un disolvente utilizado para precipitar un PHA.

10 En ciertas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden emplear uno o más disolventes de una forma relativamente eficaz. Por ejemplo, se puede recuperar un porcentaje relativamente alto del disolvente o de los disolventes utilizados en los métodos (p. ej., para volver a utilizarlos).

En algunas realizaciones de los métodos descritos, se pueden eliminar los disolventes mediante la separación física de mezclas de disolventes (p. ej., decantación).

15 En algunas realizaciones de los métodos descritos, el disolvente o los disolventes se pueden separar del PHA a una presión correspondiente con un vacío relativamente modesto y a una temperatura relativamente baja, de esta forma se minimiza la necesidad de llevar a cabo una destilación que requiere relativamente mucha energía.

En algunas realizaciones de los métodos descritos, los PHA aislados pueden presentar una filtrabilidad relativamente alta.

En algunas realizaciones de los métodos descritos, los PHA aislados pueden tener características deseables en cuanto a su lavado como residuos sólidos.

20 En algunas realizaciones de los métodos descritos, los PHA aislados pueden estar relativamente no aglomerados y/o ser relativamente incompresibles y/o relativamente no fibrosos y/o pueden tener una densidad aparente relativamente alta y/o pueden tener un diámetro de gránulo relativamente grande, de esta manera se facilita además la purificación de los PHA mediante métodos que explotan condiciones de gravedad.

25 En ciertas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden extraer PHA de biomasa con un rendimiento relativamente alto. En algunas realizaciones de los métodos descritos, se puede extraer PHA de biomasa con un rendimiento relativamente alto sin utilizar varias etapas (p. ej., con un proceso en una sola etapa).

En algunas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden extraer polímero relativamente puro (p. ej., PHA).

En algunas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden tener un impacto medioambiental reducido.

30 En ciertas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden extraer el polímero con una velocidad espacial relativamente alta (p. ej., para una producción elevada con un tiempo de permanencia global bajo en el equipo del proceso).

35 En ciertas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden producir una cantidad relativamente baja de subproductos de reacción no deseados (p. ej., ácidos orgánicos). Esto puede, por ejemplo, disminuir la probabilidad de que se produzca corrosión u otro daño no deseado en los sistemas utilizados en los métodos y/o extender la vida útil de tales sistemas.

En ciertas realizaciones de los métodos descritos, los métodos pueden proporcionar una recuperación de disolvente relativamente elevada.

40 En algunas realizaciones de los métodos descritos, se forma una biomasa residual con una viscosidad relativamente baja.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos adjuntos y la siguiente descripción. Otras características y ventajas de la invención serán evidentes en vista de la descripción, los dibujos y las reivindicaciones.

#### Descripción de los dibujos

45 La FIG.1 es un diagrama de flujo de una realización de un método para extraer PHA de una biomasa que contiene PHA.

#### Descripción detallada

La FIG.1 es un diagrama de flujo de una realización de un proceso para extraer PHA de una biomasa que posee

uno o más PHA contenidos en otros materiales asociados a la biomasa que no son PHA (p. ej., materia celular, agua). La biomasa se pone en contacto con un disolvente de extracción de PHA para formar una mezcla. El disolvente de extracción de PHA es como el definido en la reivindicación 1 y es capaz de formar un azeótropo de ebullición mínima con un disolvente receptor de PHA (agua) que se introduce posteriormente en el proceso. La mezcla se combina (p. ej., se agita) para proporcionar una combinación que incluye dos fases: la "fase de PHA" y la "fase de biomasa residual". La fase de PHA está compuesta por una solución que contiene los PHA disueltos extraídos, el disolvente de extracción de PHA y, en algunos casos, cantidades traza de los materiales asociados a la biomasa que no son PHA. La fase de biomasa residual está compuesta por una biomasa residual con un contenido reducido de PHA, los materiales asociados a la biomasa que no son PHA y, en algunos casos, una porción de arrastre del disolvente de extracción de PHA. Posteriormente, la fase de PHA y la biomasa residual se separan. En algunas realizaciones, las dos fases se pueden separar utilizando un dispositivo adecuado que explota la fuerza centrífuga para facilitar la separación (p. ej., centrífuga de discos, centrífuga de tipo bol, centrífuga decantadora, hidrociclón, contactor centrífugo contracorriente).

Opcionalmente se pueden añadir uno o más disolventes al dispositivo que explota la fuerza centrífuga para facilitar la separación.

La fase de PHA se introduce en un sistema (p. ej., un aparato de destilación o evaporación) que contiene el disolvente receptor de PHA (agua) para formar una segunda combinación. El sistema se mantiene a una temperatura y a una presión tales que se eliminan el disolvente de extracción de PHA de la fase de PHA y una porción del disolvente receptor de PHA de la segunda combinación en estado gaseoso como una mezcla azeotrópica. La mezcla azeotrópica gaseosa se condensa para formar una tercera combinación que incluye el disolvente de extracción de PHA y el disolvente receptor de PHA en estado líquido. Cuando el disolvente de extracción de PHA es inmiscible con el disolvente receptor de PHA (p. ej., cuando el disolvente de extracción de PHA y el disolvente receptor de PHA forman un azeótropo heterogéneo), los dos disolventes que forman la tercera combinación se pueden separar físicamente (p. ej., separando un disolvente del otro mediante decantación). La precipitación de PHA en el disolvente receptor de PHA tiene lugar cuando se elimina el disolvente de extracción de PHA (p. ej., se elimina sustancialmente) de la segunda combinación descrita anteriormente. El PHA sólido se separa del disolvente receptor de PHA (p. ej., mediante filtración). Opcionalmente, el PHA aislado se puede lavar además con uno o más disolventes adicionales para eliminar las impurezas que puedan seguir estando presentes.

En la presente invención, el disolvente de extracción de PHA y el disolvente receptor de PHA son como los definidos en la reivindicación 1. Sin embargo, en general, los disolventes de extracción de PHA y los disolventes receptores de PHA pueden tener una o más de las siguientes propiedades:

- (1) los disolventes de extracción de PHA pueden ser capaces de disolver el PHA para formar una solución sustancialmente uniforme a nivel molecular;
- (2) los disolventes receptores de PHA pueden tener un poder de disolución relativamente bajo para poder aislar el PHA; y
- (3) los disolventes de extracción de PHA pueden formar un azeótropo con un disolvente receptor de PHA cuando la combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA se lleva hasta el punto de ebullición (p. ej., calentando la combinación).

En algunas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA forma un azeótropo heterogéneo con el disolvente receptor de PHA cuando la combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA se lleva hasta el punto de ebullición (p. ej., calientando la combinación). La fase vapor puede formar subsiguientemente dos capas líquidas inmiscibles cuando se condensa (p. ej., enfriando la fase vapor con un condensador).

Como se utiliza en la presente, el término "azeótropo" se refiere a una mezcla líquida con ebullición constante de dos o más componentes que no se puede separar mediante destilación fraccionada en sus componentes constitutivos sustancialmente puros, independientemente de la eficacia de la columna de fraccionamiento. En realizaciones de la invención, el disolvente de extracción de PHA forma un azeótropo de ebullición mínima con el disolvente receptor de PHA, en el que el punto de ebullición de la combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA es menor que el punto de ebullición del disolvente de extracción de PHA sustancialmente puro y que el del disolvente receptor de PHA sustancialmente puro. Se describen procesos en los que el disolvente de extracción de PHA forma un azeótropo de ebullición máxima con el disolvente receptor de PHA, en el que el punto de ebullición de la combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA es superior tanto al punto de ebullición del disolvente de extracción de PHA sustancialmente puro como al del disolvente receptor de PHA sustancialmente puro.

En general, el número de disolventes de extracción de PHA y disolventes receptores de PHA se puede seleccionar según se desee. Como ejemplo, un único disolvente de extracción de PHA puede formar un azeótropo binario (un

azeótropo de ebullición mínima) con un único disolvente receptor de PHA. Como otro ejemplo, un único disolvente de extracción de PHA puede formar un azeótropo ternario (un azeótropo de ebullición mínima) con dos disolventes receptores de PHA diferentes. Como otro ejemplo más, dos disolventes de extracción de PHA diferentes pueden formar un azeótropo ternario (un azeótropo de ebullición mínima) con un único disolvente receptor de PHA. En algunas realizaciones, dos o más disolventes de extracción de PHA (p. ej., tres disolventes de extracción de PHA, cuatro disolventes de extracción, cinco disolventes de extracción) pueden formar un azeótropo multicomponente (p. ej., cuatro componentes, cinco componentes, seis componentes, siete componentes, ocho componentes, nueve componentes, diez componentes) con dos o más disolventes receptores de PHA (p. ej., tres disolventes receptores de PHA, cuatro disolventes receptores, cinco disolventes receptores).

La selección de una combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA depende del PHA dado que se ha de purificar y del punto de ebullición deseado del azeótropo de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA. Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el disolvente de extracción de PHA y el receptor de PHA adecuados para un PHA dado se pueden seleccionar emparejando sustancialmente parámetros de solvatación adecuados (p. ej., fuerzas de dispersión, puentes de hidrógeno y/o polaridad) del PHA dado y los disolventes. Por ejemplo, un PHA relativamente apolar se puede emparejar con un disolvente de extracción de PHA relativamente apolar. Nuevamente, sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el disolvente de extracción de PHA y el receptor de PHA adecuados para un PHA dado se pueden seleccionar determinando cuál de las combinaciones de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA candidatas forma un azeótropo con el punto de ebullición deseado. En algunas realizaciones, el punto de ebullición azeotrópico deseado se puede seleccionar en función de la temperatura de fusión ( $T_f$ ) del PHA que se vaya a aislar. Los parámetros de solvatación se describen, por ejemplo, en Hansen, *Solubility Parameters – A User's Handbook*; CRC Press, NY, NY (2000). Los datos azeotrópicos se describen, por ejemplo, en Weast, R.C., ed., *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 63.<sup>a</sup> edición, CRC Press, Boca Raton, FL (1982) y en las referencias descritas en este.

El disolvente receptor de PHA es agua. En algunas realizaciones, la solubilidad del PHA en el disolvente receptor de PHA es inferior a aproximadamente un 0.2 por ciento (p. ej., inferior a aproximadamente un 0.1 por ciento) del PHA a 20 °C.

En la presente invención, el disolvente de extracción de PHA es como el definido en la reivindicación 1. Sin embargo, en general, los solventes de extracción de PHA pueden ser un disolvente orgánico. Los disolventes de extracción de PHA pueden ser, por ejemplo, cetonas, ésteres, alcoholes (p. ej., alcoholes con al menos cuatro carbonos) y alcanos. En general, las cetonas pueden ser cíclicas o acíclicas, de cadena lineal o ramificada, y/o pueden estar sustituidas o no. Los ejemplos de cetonas acíclicas y cetonas cíclicas incluyen la cetona isobutil metílica ("MIBK"), 3-metil-2-pentanona (cetona butil metílica), 4-metil-2-pentanona (cetona isobutil metílica), 3-metil-2-butanona (cetona isopropil metílica), 2-pentanona (cetona *n*-propil metílica), cetona diisobutílica, 2-hexanona (cetona *n*-butil metílica), 3-pentanona (cetona dietílica), 2-metil-3-heptanona (cetona butil isopropílica), 2-heptanona, 3-heptanona (cetona *n*-butil etílica), 4-heptanona, 2-octanona (cetona *n*-hexil metílica), 5-metil-3-heptanona (cetona amil etílica), 5-metil-2-hexanona (cetona isoamil metílica), heptanona (cetona metil pentílica), ciclohexanona y ciclohexanona.

En general, los ésteres pueden ser cíclicos, acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o pueden estar sustituidos o no. Los ejemplos de ésteres acíclicos y ésteres cíclicos incluyen acetato de etilo, acetato de isobutilo, acetato de propilo, acetato de butilo, acetato de amilo, acetato de isoamilo, acetato de hexilo, butirato de etilo, isobutirato de butilo, butirato de isobutilo, isobutirato de isobutilo, *n*-butirato de metilo, butirato de isoamilo, propionato de propilo, propionato de isopropilo, propionato de butilo, propionato de isobutilo, propionato de isoamilo, butirato de butilo, valerato de metilo, valerato de etilo, isovalerato de propilo, caproato de metilo, butirato de etilo, acetato de etilo, gamma-butirolactona y gamma-valerolactona.

En general, los alcoholes con al menos cuatro átomos de carbono pueden ser cíclicos o acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o estar sustituidos o no. Los ejemplos de tales alcoholes cíclicos y alcoholes acíclicos incluyen *n*-butanol, alcohol *sec*-butílico, metil-1-butanol, etil-1-butanol, 3-metil-1-butanol (alcohol amílico), 2-metil-1-pentanol, 2-metil-2-butanol (alcohol *tert*-amílico), 3-metil-2-pentanol (carbinol isobutil metílico), metil-2-pentanol, 4-metil-2-pentanol, alcohol butílico, alcohol pentílico, alcohol 2-pentílico, alcohol hexílico, alcohol heptílico, ciclohexanol, metilciclohexanol y aceite de fusel (una mezcla de alcoholes superiores, que suele ser un subproducto de la destilación del alcohol y suele ser principalmente alcohol amílico (metilbutanol)).

En general, los alcanos pueden ser cíclicos o acíclicos, de cadena lineal o ramificada, y/o pueden estar sustituidos o no. En algunas realizaciones, los alcanos incluyen alcanos de cadena lineal y tienen cinco o más átomos de carbono (p. ej., heptano, hexano, octano, nonano y dodecano). En ciertas realizaciones, los alcanos incluyen isoalcanos (p. ej., metilheptano, metiloctano y dimetilheptano). En ciertas realizaciones, se puede utilizar Soltrol<sup>®</sup> 100 (una mezcla de isoalcanos C9-C11, comercializada por Chevron Phillips Chemical Company con sede en Houston, TX).

En algunas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA no está halogenado. El uso de un disolvente no

halogenado puede ser conveniente ya que esto puede reducir el impacto medioambiental negativo del disolvente, reducir los riesgos para la salud asociados con el uso del disolvente y/o reducir los costes asociados con el almacenamiento, la manipulación y/o la eliminación del disolvente.

5 En ciertas realizaciones, el solvente de extracción de PHA puede tener una densidad relativamente baja. Por ejemplo, la extracción de PHA puede tener una densidad inferior a aproximadamente 0.95 kilogramos por litro (p. ej., inferior a aproximadamente 0.9 kilogramos por litro, inferior a aproximadamente 0.8 kilogramos por litro o inferior a aproximadamente 0.7 kilogramos por litro) a 20 °C. Sin que ello suponga limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que utilizando una extracción de PHA con una densidad relativamente baja puede aumentar la calidad de la separación de la fase de PHA de la fase de biomasa residual.

10 En algunas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA tiene una solubilidad relativamente baja en agua. Por ejemplo, el disolvente de extracción de PHA tiene una solubilidad en agua inferior a aproximadamente un uno por ciento (p. ej., inferior a aproximadamente un 0.5 por ciento o inferior a aproximadamente un 0.2 por ciento) a 20 °C. Un disolvente de extracción de PHA con una solubilidad relativamente baja en agua puede ser deseable porque este tipo de disolvente tiene menos tendencia a mezclarse con agua. Esto puede hacer que sea más fácil proporcionar dos fases separadas durante el proceso, de esta forma se reduce el coste y/o la complejidad del proceso.

15 En ciertas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA es sustancialmente no hidrolizable. Por ejemplo, el disolvente puede ser como máximo tan hidrolizable como el acetato de etilo. El uso de un disolvente de extracción de PHA sustancialmente no hidrolizable puede reducir la probabilidad de que se formen productos secundarios no deseados (p. ej., especies químicamente reactivas, tales como ácidos orgánicos). Esto puede reducir la cantidad y/o la rapidez, por ejemplo, de corrosión de porciones (p. ej., de fontanería) del sistema en el que se lleva a cabo la extracción de PHA.

En realizaciones de la invención, el disolvente de extracción de PHA tiene un punto de ebullición mayor que el disolvente receptor de PHA.

25 En algunas realizaciones, puede ser deseable que el disolvente de extracción de PHA tenga un punto de ebullición como máximo de aproximadamente 200 °C (p. ej., como máximo de aproximadamente 190 °C, como máximo de aproximadamente 180 °C, como máximo de aproximadamente 170 °C, como máximo de aproximadamente 160 °C o como máximo de aproximadamente 150 °C). Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el uso de este tipo de disolvente de extracción de PHA puede hacer que sea más fácil secar el PHA aislado y de esta forma se minimiza la cantidad de disolvente residual no deseado que está asociado con el PHA aislado.

30 En ciertas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA (p. ej., MIBK) puede incluir además un volumen relativamente bajo de un disolvente receptor de PHA (p. ej., *n*-heptano). Este disolvente receptor de PHA añadido es generalmente miscible con el disolvente de extracción de PHA y puede ser el mismo que disolvente receptor de PHA utilizado para recibir el PHA aislado o puede ser diferente de este. Sin que ello suponga limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que la inclusión de disolvente receptor de PHA en el disolvente de extracción de PHA puede reducir la viscosidad de una solución (p. ej., la fase de PHA) que contiene el PHA y el disolvente de extracción de PHA, y/o aumentar la selectividad del proceso a la hora de extraer el PHA deseado.

En algunas realizaciones, el disolvente receptor de PHA añadido es diferente del disolvente receptor de PHA utilizado para recibir el PHA aislado (p. ej., realizaciones con un disolvente receptor de PHA-1 para recibir el PHA y un disolvente receptor de PHA-2 que se añade al disolvente de extracción de PHA).

40 En ciertas realizaciones, la cantidad de disolvente receptor de PHA-2 es tal que el máximo de la presión de vapor de la combinación de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA-1 no se altera sustancialmente. Por ejemplo, la relación entre el volumen del disolvente receptor de PHA añadido y el volumen del disolvente de extracción de PHA es inferior a aproximadamente 0.10 (p. ej., inferior a aproximadamente 0.07, inferior a aproximadamente 0.05 o inferior a aproximadamente 0.02).

45 En algunas realizaciones, el disolvente receptor de PHA-2 puede formar un azeótropo ternario con el disolvente de extracción de PHA y el disolvente receptor de PHA-1.

50 En algunas realizaciones, el disolvente receptor de PHA-2 y el disolvente de extracción de PHA pueden formar cada uno un azeótropo binario con el disolvente receptor de PHA-1. En ciertas realizaciones, el azeótropo binario formado a partir de la combinación de disolvente receptor de PHA-2/disolvente receptor de PHA-1 puede tener un punto de ebullición dentro de un intervalo de aproximadamente 10 °C (p. ej., dentro de 8 °C, dentro de 6 °C o dentro de 5 °C) respecto al punto de ebullición de la combinación del disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA-1.

55 Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría particular, se cree que la formación de un azeótropo ternario (p. ej., disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA-2/disolvente receptor de PHA-1) o una pareja con ebullición próxima de azeótropos binarios (p. ej., disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA-1 y disolvente receptor de PHA-2/disolvente receptor de PHA-1) facilita la recuperación completa de tanto el disolvente

de extracción de PHA como el disolvente receptor de PHA-2 para su reciclaje y reutilización eficaces, p. ej., cuando la mezcla azeotrópica gaseosa se condensa para formar una tercera combinación que incluye el disolvente de extracción de PHA, el disolvente receptor de PHA-1 y el disolvente receptor de PHA-2. En ciertas realizaciones, el disolvente receptor de PHA-2 tiene una solubilidad relativamente baja o es inmiscible con el disolvente receptor de PHA-1 para permitir una separación y un reciclaje eficaces (p. ej., decantando con el disolvente de extracción de PHA después de formar la tercera combinación).

Las combinaciones de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA de la presente invención son aquellas definidas en la reivindicación 1, en las que el disolvente receptor de PHA es agua y el disolvente de extracción de PHA es un disolvente que puede formar un azeótropo de ebullición mínima con agua.

En algunas realizaciones, el azeótropo de ebullición mínima puede tener un punto de ebullición de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 99 °C a 1 atmósfera (atm) (p. ej., de aproximadamente 65 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 70 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 75 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 95 °C, de aproximadamente 85 °C a aproximadamente 95 °C o de aproximadamente 90 °C a aproximadamente 95 °C). En algunas realizaciones, el punto de ebullición del azeótropo de ebullición mínima puede ser al menos aproximadamente 10 °C inferior (p. ej., al menos aproximadamente 20 °C inferior o al menos aproximadamente 30 °C inferior) a la temperatura de fusión (Tf) del PHA. Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que este tipo de azeótropo puede minimizar la probabilidad de que se forme gel durante el paso de precipitación. Nuevamente, sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría, también se cree que este tipo de azeótropo se puede eliminar a una presión correspondiente con un vacío relativamente moderado (p. ej., al menos aproximadamente 10 kPa (absoluta), al menos aproximadamente 20 kPa (absoluta) o al menos aproximadamente 30 kPa (absoluta)) y a una temperatura relativamente baja (p. ej., de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 60 °C). Esto puede minimizar la probabilidad de que se necesite llevar a cabo una destilación que requiere relativamente mucha energía para eliminar el disolvente de extracción de PHA como un azeótropo de ebullición mínima con agua. El disolvente de extracción de PHA tiene un punto de ebullición superior a 100 °C.

En ciertas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA no está halogenado, tiene una solubilidad en agua relativamente baja (p. ej., menor que el acetato de etilo) y una reactividad relativamente baja desde el punto de vista de la hidrólisis y/o desde el punto de vista de la reactividad frente al polímero.

En ciertas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA es MIBK y forma un azeótropo con agua con un contenido de agua de aproximadamente un 25% y un punto de ebullición azeotrópico de aproximadamente 88 °C.

En general, el disolvente de extracción de PHA se elimina como una mezcla azeotrópica con el disolvente receptor de PHA por destilación o evaporación (p. ej., evaporación en varias etapas para conseguir la recuperación sustancialmente completa del disolvente de extracción de PHA).

En algunas realizaciones, la destilación o evaporación se puede llevar a cabo a una presión correspondiente con un vacío relativamente modesto. Por ejemplo, la destilación o evaporación se puede llevar a cabo a una presión (absoluta) como máximo de aproximadamente 50 kiloPascales (kPa) (p. ej., como máximo de aproximadamente 40 kPa, como máximo de aproximadamente 30 kPa, como máximo de aproximadamente 20 kPa o como máximo de aproximadamente 10 kPa).

En algunas realizaciones, la destilación o evaporación se puede llevar a cabo a una temperatura relativamente baja. Por ejemplo, la destilación o evaporación se puede llevar a cabo a una temperatura como máximo de aproximadamente 60 °C (p. ej., como máximo de aproximadamente 50 °C, como máximo de aproximadamente 40 °C, como máximo de aproximadamente 30 °C, como máximo de aproximadamente 25 °C o como máximo de aproximadamente 20 °C).

En algunas realizaciones la fase PHA se puede combinar con el disolvente receptor de PHA antes de comenzar a destilar o evaporar. En algunas realizaciones, la fase PHA se puede introducir en un sistema (p. ej., un aparato de destilación o evaporación) que contiene el disolvente receptor de PHA, en el que el sistema se mantiene a una temperatura y una presión que son suficientes para formar y eliminar la mezcla azeotrópica de disolvente de extracción de PHA/disolvente receptor de PHA del sistema en la fase gaseosa (remítase, p. ej., a la FIG. 1). En ciertas realizaciones, la fase de PHA se puede introducir (p. ej., inyectar) en porciones en el sistema. En algunas realizaciones, puede ser conveniente introducir la fase de PHA en el sistema con una velocidad relativamente baja. Por ejemplo, la fase de PHA se puede introducir a una velocidad como máximo de aproximadamente 2 gpm (galones por minuto) de fase de PHA por 100 gal de disolvente receptor de PHA (p. ej., como máximo de aproximadamente 4 gpm/100 gal., como máximo de 3 gpm/100 gal., como máximo de aproximadamente 2 gpm/100 gal., como máximo de aproximadamente 1 gpm/100 gal o como máximo de 0.5 gpm/100 gal.). En algunas realizaciones, la fase de PHA se puede introducir a una velocidad que es sustancialmente similar a la velocidad a la que se recoge el destilado azeotrópico.

En algunas realizaciones, la mezcla de fase de PHA/disolvente receptor de PHA se agita durante la destilación utilizando dispositivos de alta velocidad tales como propulsores de alta velocidad (p. ej., una turbina de álabes

planos). Las velocidades de cizalla se determinan mediante las velocidades periféricas de los diferentes dispositivos y puede variar de entre, por ejemplo, aproximadamente 100 revoluciones por minuto (rpm) y aproximadamente 500 rpm (p. ej., 300 rpm). Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que la mezcla de alta velocidad puede, en ciertas condiciones, mejorar la calidad del PHA precipitado.

5 En general, el PHA se recibe en forma sólida (p. ej., como gránulos de polímero o como un sólido cristalino) en el disolvente receptor de PHA después de eliminar el disolvente de extracción de PHA de la fase de PHA. En algunas realizaciones, el PHA se recibe en forma sólida cuando se elimina el disolvente de extracción de PHA sustancialmente de la fase de PHA.

10 En algunas realizaciones, el disolvente receptor de PHA está sustancialmente exento de gel o formaciones de tipo gel durante la recepción del PHA.

El PHA se separa posteriormente del disolvente receptor de PHA. Esta separación se puede llevar a cabo mediante, por ejemplo, filtración o centrifugación (p. ej., utilizando una centrifuga de cesta o utilizando un filtro de banda de vacío).

15 En algunas realizaciones, el PHA se puede obtener como un sólido relativamente incompresible y no fibroso. Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que dichos sólidos incompresibles y no fibrosos tienen unas mejores características en cuanto a su filtración y lavado de residuos sólidos, de esto modo se facilita el aislamiento y la purificación de PHA, respectivamente. La solubilidad de los sólidos de PHA para las operaciones de filtración y lavado de residuos sólidos viene caracterizada por la distribución del tamaño de partícula determinada cribando los sólidos de PHA a través de un conjunto de tamices agrupados como un bastidor en el que los tamices tienen los orificios de mayor tamaño en la parte superior y los orificios de menor tamaño en la parte inferior. Los tamaños típicos de los paneles tamizadores variarán de entre aproximadamente 0.25 milímetros (mm) y aproximadamente 6 mm. Después de pasar una muestra representativa de los sólidos de PHA a través del panel tamizador, las fracciones se recogen y se pesan, y se expresan como un porcentaje del total retenido en cada panel tamizador. Normalmente el panel tamizador está acoplado a un agitador adecuado después de colocar la muestra sobre el tamiz superior para facilitar un fraccionamiento eficaz. En algunas realizaciones, los sólidos de PHA estarán relativamente exentos de finos (p. ej., menos de aproximadamente un 10%, menos de aproximadamente un 5%, menos de aproximadamente un 2.5% de material acumulativo de un tamaño inferior de aproximadamente 0.25 mm) y también pueden estar relativamente exentos de material de gran tamaño que podría acumularse en el equipo y producir obstrucciones (p. ej., menos de un 10%, un 5% o un 2.5% de material acumulativo de tamaño superior a 5 mm). Los métodos adecuados para determinar la distribución del tamaño de partícula utilizando una prueba de criba se describen en ASTM-D 1921-01. En algunas realizaciones, el PHA se puede obtener como un sólido con una densidad aparente relativamente alta. Por ejemplo, el PHA puede tener una densidad aparente de al menos aproximadamente 0.200 kilogramos (kg)/litro (L) o kg/metro cúbico (m<sup>3</sup>) (p. ej., de al menos aproximadamente 0.200 kg/L, de al menos aproximadamente 0.250 kg/L, de al menos aproximadamente 0.300 kg/L, de al menos aproximadamente 0.350 kg/L, de al menos aproximadamente 0.400 kg/L, de al menos aproximadamente 0.450 kg/L, de al menos aproximadamente 0.500 kg/L o de al menos aproximadamente 0.600 kg/L). La densidad aparente se puede determinar utilizando la densidad aparente de compactación medida en una probeta graduada de acuerdo con ASTM-D 527-93.

40 En algunas realizaciones, el PHA se puede obtener como gránulos de polímero con un diámetro relativamente grande. Por ejemplo, los gránulos de polímero pueden tener un diámetro de al menos aproximadamente 0.5 milímetros (mm) (p. ej., de al menos aproximadamente 1.0 mm, de al menos aproximadamente 1.5 mm, de al menos aproximadamente 2.0 mm o de al menos aproximadamente 2.5 mm).

45 Normalmente, el PHA precipitado se lava posteriormente para facilitar la eliminación de impurezas no deseadas, tales como los disolventes remanentes. En algunas realizaciones, el polímero se puede lavar con un disolvente (p. ej., MIBK, metanol o una mezcla de disolventes). Habitualmente, la composición para el lavado se selecciona para reducir (p. ej., minimizar) la redisolución de PHA y/o para aumentar (p. ej., maximizar) la eliminación de impurezas.

50 En ciertas realizaciones, el PHA aislado se puede purificar además lavando con alcohol (p. ej., metanol) y utilizando una cascada contracorriente (p. ej., partiendo de metanol relativamente impuro de un paso anterior y terminando con metanol relativamente puro). En algunas realizaciones, este paso de lavado se puede llevar a cabo a una temperatura elevada y con un tiempo de permanencia adecuado para facilitar además el lavado y la eliminación de impurezas. En general, el volumen total de lavados de residuo sólido de PHA retenido en el filtro con metanol puede representar un volumen relativamente pequeño que se puede volver a purificar fácilmente (p. ej., utilizando filtración, carbón activo, evaporación instantánea de impurezas no volátiles o destilación) y se puede volver a utilizar.

55 Normalmente, el PHA precipitado y lavado se seca (p. ej., a una temperatura de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 100 °C). Se puede llevar a cabo el secado al vacío (p. ej., como ayuda para facilitar la recuperación del disolvente residual). En ciertas realizaciones, puede que sea conveniente extrudir directamente el PHA precipitado que aún contiene disolvente, por ejemplo, en un extrusor desvolatilizante. Dicha extrusión se puede

llevar a cabo, por ejemplo, a una temperatura próxima al punto de fusión del polímero y el disolvente se puede recuperar directamente del extrusor. Opcionalmente, se puede inyectar agua a presión en el extrusor desvolatilizante (p. ej., para generar vapor *in situ* para facilitar la desorción y la eliminación eficaces de trazas de disolvente residual). Opcionalmente, se puede inyectar una corriente de gas (p. ej., aire, CO<sub>2</sub> o vapor) en el extrusor (p. ej., para facilitar la eliminación de disolvente). La extrusión pueden unificar las operaciones de secado y formación del producto (p. ej., peletización) en una sola unidad con, por ejemplo, ahorro de capital y de costes operacionales.

El destilado azeotrópico se puede procesar además de forma que el disolvente de extracción de PHA y el disolvente receptor de PHA se puedan volver a utilizar. Por ejemplo, en realizaciones en las que el disolvente receptor de PHA es agua y el disolvente de extracción de PHA es un disolvente inmisible en agua (p. ej., MIBK), los dos componentes se pueden separar decantando, p. ej., la capa de disolvente de extracción de PHA superior de la capa de acuosa inferior.

En algunas realizaciones, la biomasa se puede proporcionar como una suspensión. Normalmente, la suspensión se obtiene formando un caldo de fermentación que contiene agua y la biomasa, y eliminando una porción del agua del caldo de fermentación. El agua se puede eliminar, por ejemplo, mediante filtración (p. ej., microfiltración o filtración con membrana) y/o decantando y/o utilizando fuerza centrífuga. En ciertas realizaciones, las impurezas de la biomasa, tales como impurezas de la pared celular y la membrana celular, se pueden eliminar durante el proceso de obtención de la suspensión. Dichas impurezas pueden incluir proteínas, lípidos (p. ej., triglicéridos, fosfolípidos y lipoproteínas) y lipopolisacáridos. En otras realizaciones, se puede utilizar biomasa. En ciertas realizaciones, la biomasa seca se puede combinar con agua para obtener una suspensión.

En algunas realizaciones, añadir un precipitante a la suspensión antes de añadir el sistema de disolventes puede provocar la formación de un PHA extraído, aislado y relativamente puro (p. ej., con una pureza de al menos aproximadamente un 99%, una pureza de al menos aproximadamente un 99.5% o una pureza de al menos aproximadamente un 99.9%). Los precipitantes adecuados incluyen alcoholes sustituidos o no sustituidos de cadena lineal o ramificada y/o alcanos. Los alcanos puede ser cíclicos o acíclicos. Los ejemplos de alcoholes adecuados que se pueden utilizar como precipitante incluyen metanol, etanol, propanol e isopropanol. Los ejemplos de alcanos adecuados que se pueden utilizar como precipitante incluyen hexano, ciclohexano, heptano, metilheptano, dimetilheptano, octano, metiloctano y nonano. Los precipitantes mencionados en la presente se pueden adquirir de proveedores comerciales. Por ejemplo, SOLTROL 100 (una mezcla de isoalcanos C9-C11) es comercializado por Chevron Phillips Chemical Company (Houston, TX). La pureza del PHA obtenido de esta forma se puede determinar mediante análisis por cromatografía de gases (CG) (p. ej., con un CG Hewlett Packard 5890 Serie II equipado con una columna Supelco 24044 SBP-1 de 30 m x 0.32 mm de DI con una película de 0.25 µm) seguido por la butanólisis de una muestra de PHA en condiciones ácidas para formar ésteres butílicos de las unidades monoméricas de PHA así como también los ésteres butílicos de los residuos de ácidos grasos de lípidos y fosfolípidos. Se pueden utilizar patrones adecuados de ácidos grasos e hidroxiácidos (p. ej., ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico o ácido 3-hidroxi-butírico) para calibrar, estandarizar y cuantificar la respuesta cromatográfica. Este método se puede utilizar para cuantificar tanto el contenido de polímero como el contenido de impurezas. Las impurezas inorgánicas se pueden cuantificar mediante calcinación.

Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que añadir un precipitante a la suspensión que contiene el PHA antes de añadir el sistema de disolventes puede facilitar la eliminación de impurezas de la biomasa (p. ej., fosfolípidos, lípidos neutros o lipoproteínas). Esto puede ser particularmente conveniente si el contenido de PHA sólido en la biomasa es relativamente alto (p. ej., con un contenido de PHA sólido de al menos aproximadamente un 65% o de al menos aproximadamente un 75%).

La suspensión también se puede pretratar químicamente para obtener un PHA extraído, aislado y relativamente puro (p. ej., con una pureza de al menos aproximadamente un 99% o de al menos aproximadamente un 99.5%). Por ejemplo, antes de añadir el sistema de disolventes, la suspensión se puede tratar con un material básico (tal como hidróxido de potasio, hidróxido de sodio y/o hidróxido de amonio) para formar una mezcla cáustica suave (p. ej., con un pH de aproximadamente 8.5 a aproximadamente 10, de aproximadamente 8.5 a aproximadamente 9, de aproximadamente 9 a aproximadamente 9.5 o de aproximadamente 9.5 a aproximadamente 10) y a continuación se neutraliza. Durante el pretratamiento químico de la suspensión, la temperatura se puede incrementar (p. ej., hasta cualquier temperatura entre la temperatura ambiente y aproximadamente 95 °C) y se pueden añadir otros agentes químicos adecuados, tales como surfactantes, detergentes y/o enzimas, para facilitar aún más la formación de un PHA extraído, aislado y relativamente puro. Los surfactantes y detergentes adecuados incluyen surfactantes aniónicos (p. ej., dodecilsulfato sódico) y surfactantes no iónicos (p. ej., TWEEN 20 y TWEEN 80 comercializados por Sigma Aldrich (St. Louis, MO) e HYPERMER CG-6 comercializado por Uniqema (New Castle, DE)). Las enzimas adecuadas incluyen lipasas (p. ej., LIPOLASE o LIPEX comercializadas por Novazymes (Bagsvaerd, Dinamarca)), fosfolipasas (p. ej., LECITASE comercializada por Novazymes (Bagsvaerd, Dinamarca)), nucleasas (p. ej., BENZONASE comercializada por E.M. Industries\_(Hawthorne, NY)), proteasas (p. ej., PROTEX 6L comercializado por Genencor (Palo Alto, CA) y ALCALASE comercializada por Novazymes (Bagsvaerd, Dinamarca)) y lisozimas (p. ej., lisozimas de clara de huevo comercializadas por Inovatech Inc. (British Columbia, Canadá)). En algunas realizaciones, también se pueden utilizar agentes complejantes y secuestrantes, tales como ácido cítrico y EDTA,

para facilitar aún más la eliminación de impurezas.

Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el tratamiento químico (p. ej., con un material básico para formar una mezcla cáustica suave) de la suspensión antes de añadir el sistema de disolventes puede facilitar la eliminación de impurezas que estén presentes en la biomasa (p. ej., lípidos, fosfolípidos o lipoproteínas). Esto puede ser particularmente conveniente si el contenido de PHA sólido en la biomasa es relativamente alto (p. ej., con un contenido de PHA sólido de al menos aproximadamente un 65% o de al menos aproximadamente un 75%).

En algunas realizaciones, la suspensión tiene un contenido sólido (p. ej., peso de la biomasa seca, incluido su contenido de PHA, relativo al peso húmedo total de la suspensión) de aproximadamente un 15 por ciento en peso a aproximadamente un 40 por ciento en peso (p. ej., de aproximadamente un 25 por ciento en peso a aproximadamente un 35 por ciento en peso).

El contenido de PHA de la biomasa (p. ej., el contenido de PHA de la biomasa seca, incluido su contenido de polímero, con relación al porcentaje en peso) puede variar según se desee. Como ejemplo, en realizaciones en las que la biomasa es de origen microbiano, la biomasa puede tener un contenido de PHA de al menos aproximadamente un 50 por ciento en peso (p. ej., de al menos aproximadamente un 60 por ciento en peso, de al menos aproximadamente un 70 por ciento en peso o de al menos un 80 por ciento en peso). Como otro ejemplo, en realizaciones en las que la biomasa es de origen vegetal, la biomasa puede tener un contenido de PHA inferior a aproximadamente un 50 por ciento en peso (p. ej., inferior a aproximadamente un 40 por ciento en peso, inferior a aproximadamente un 30 por ciento en peso o inferior a aproximadamente un 20 por ciento en peso).

La biomasa puede proceder de uno o más tipos de entidades diferentes. Dichas entidades incluyen, por ejemplo, cepas microbianas para producir PHA (p. ej., *Alcaligenes eutrophus* (denominada actualmente *Ralstonia eutropha*), *Alcaligenes latus*, *Azotobacter*, *Aeromonas*, *Comamonas*, *Pseudomonads*), organismos modificados genéticamente para producir PHA (p. ej., *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*), levaduras para producir PHA y sistemas vegetales para producir PHA. Tales entidades se describen, por ejemplo, en Lee, *Biotechnology & Bioengineering* 49: 1-14 (1996); Braunegg et al., (1998), *J. Biotechnology* 65: 127-161; Madison and Huisman, 1999; y Snell and Peoples 2002, *Metabolic Engineering* 4: 29-40.

En realizaciones en las que la biomasa contiene células microbianas, el tamaño de las células microbianas contenidas en la biomasa también puede variar según se desee. En general, las células microbianas (p. ej., células bacterianas) tienen al menos una dimensión con un tamaño de al menos aproximadamente 0.2 micrones (p. ej., de al menos aproximadamente 0.5 micrones, de al menos aproximadamente un micrón, de al menos aproximadamente dos micrones, de al menos aproximadamente tres micrones, de al menos aproximadamente cuatro micrones o de al menos aproximadamente cinco micrones). En ciertas realizaciones, utilizar células microbianas relativamente grandes (p. ej., células bacterianas relativamente grandes) en la biomasa puede ser conveniente porque puede facilitar la separación de la biomasa para formar la suspensión de biomasa.

En general, un PHA se forma mediante polimerización (p. ej., polimerización enzimática) de una o más unidades monoméricas. Los ejemplos de tales unidades monoméricas incluyen, por ejemplo, 3-hidroxiбутирато, ácido glicólico, 3-hidroxiпропионато, 3-hidroxiуалерато, 3-hidroxihexanoato, 3-hidroxiheptanoato, 3-hidroxiоctanoato, 3-hidroxiноноато, 3-hidroxiдеcanoato, 3-hidroxiдodecanoato, 3-hidroxiдodecenoato, 3-hidroxitetradecanoato, 3-hidroxihexadecanoato, 3-hidroxiоctadecanoato, 4-hidroxiбутирато, 4-hidroxiуалерато, 5-hidroxiуалcrato y 6-hidroxihexanoato.

En algunas realizaciones, el PHA tiene al menos una unidad monomérica de fórmula química  $-OCR_1R_2(CR_3R_4)_nCO-$ , en la que  $r$  es cero o un número entero (p. ej., uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, 10, 11, 12, 13, 14, 15, etc.). Cada uno de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  es un átomo de hidrógeno, un radical hidrocarbonado saturado, un radical hidrocarbonado insaturado, un radical sustituido (p. ej., un radical hidrocarbonado sustituido) o un radical no sustituido (p. ej., un radical hidrocarbonado no sustituido). Los ejemplos de radicales sustituidos incluyen radicales sustituidos con halógeno (p. ej., radicales hidrocarbonados sustituidos con halógeno), radicales sustituidos con hidroxilo (p. ej., radicales hidrocarbonados sustituidos con hidroxilo), radicales halógenos, radicales sustituidos con nitrógeno (p. ej., radicales hidrocarbonados sustituidos con nitrógeno) y radicales sustituidos con oxígeno (p. ej., radicales hidrocarbonados sustituidos con oxígeno). Los radicales sustituidos incluyen, por ejemplo, radicales hidrocarbonados saturados sustituidos y radicales hidrocarbonados insaturados sustituidos.  $R_1$  es el mismo que o diferente de cada uno de  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$ ;  $R_2$  es el mismo que o diferente de cada uno de  $R_1$ ,  $R_3$  y  $R_4$ ;  $R_3$  es el mismo que o diferente de cada uno de  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_4$ ; y  $R_4$  es el mismo que o diferente de cada uno de  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$ .

En algunas realizaciones, el PHA es un copolímero que contiene dos o más unidades monoméricas diferentes. Los ejemplos de tales copolímeros incluyen poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiпропионато, poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiуалерато, poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxihexanoato, poli-3-hidroxiбутирато-co-4-hidroxiбутирато, poli-3-hidroxiбутирато-co-4-hidroxiуалерато, poli-3-hidroxiбутирато-co-6-hidroxihexanoato, poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiheptanoato, poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiоctanoato, poli-3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiдеcanoato, poli-3-

hidroxibutirato-co-3-hidroxiodecanoato, poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi octanoato-co-3-hidroxi decanoato, poli-3-hidroxi decanoato-co-3-hidroxi octanoato y poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi octadecanoato.

5 En ciertas realizaciones, el PHA es un homopolímero. Los ejemplos de tales homopolímeros incluyen poli-4-hidroxibutirato, poli-4-hidroxi valerato, poli-3-hidroxi propionato, poli-3-hidroxibutirato, poli-3-hidroxi hexanoato, poli-3-hidroxi heptanoato, poli-3-hidroxi octanoato, poli-3-hidroxi decanoato y poli-3-hidroxi dodecanoato.

10 El PHA puede tener un peso molecular medio equivalente al peso de poliestireno de al menos aproximadamente 500 Daltons (p. ej., de al menos aproximadamente 10 000 Daltons o de al menos aproximadamente 50 000 Daltons) y/o inferior a aproximadamente 2 000 000 Daltons (p. ej., inferior a aproximadamente 1 000 000 Daltons o inferior a aproximadamente 800 000 Daltons). Como se utiliza en la presente, el peso molecular medio en peso se determina mediante cromatografía de permeación en gel utilizando, p. ej., cloroformo tanto como eluyente como diluyente para las muestras de PHA. Las curvas de calibrado para determinar los pesos moleculares se pueden generar utilizando patrones de peso molecular de poliestireno.

15 En general, la cantidad de disolvente de extracción de PHA añadido a la biomasa puede variar según se desee. En ciertas realizaciones, se añade una cantidad de disolvente de extracción de PHA a la biomasa de forma que, después de centrifugar, la fase de PHA tenga un contenido sólido de PHA inferior a aproximadamente un 10 por ciento en peso (p. ej., inferior a aproximadamente un ocho por ciento en peso, inferior a aproximadamente un seis por ciento en peso, inferior a aproximadamente un cinco por ciento en peso, inferior a aproximadamente un cuatro por ciento en peso o inferior a aproximadamente un tres por ciento en peso).

20 Se describen procesos en los que, cuando un PHA es un copolímero de tipo poli-3-hidroxibutirato (p. ej., poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi propionato, poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi valerato, poli-3-hidroxibutirato-co-4-hidroxi valerato, poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi hexanoato y/o poli-3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato, poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi octanoato-co-3-hidroxi decanoato-co-3-hidroxi dodecanoato), donde la mayoría de las unidades monoméricas son 3-hidroxibutirato (p. ej., al menos aproximadamente un 50% de las unidades monoméricas son 3-hidroxibutirato, al menos aproximadamente un 60% de las unidades monoméricas son 3-hidroxibutirato), los disolventes de extracción de PHA candidatos se pueden seleccionar entre cetonas, ésteres o alcoholes con al menos cuatro átomos de carbono; y los disolventes receptores de PHA candidatos se pueden seleccionar entre alcanos, metanol, etanol o agua. En algunas realizaciones, cuando el PHA es poli-3-hidroxibutirato-co-4-hidroxibutirato, el disolvente de extracción de PHA puede ser MIBK, acetato de butilo y ciclohexanona. En algunas realizaciones, cuando el PHA es PHB, poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi valerato o poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxi hexanoato, el disolvente de extracción de PHA puede ser ciclohexanona, ciclopentanona o mezclas de MIBK y ciclohexanona. En general, el disolvente receptor de PHA es agua cuando el disolvente de extracción de PHA incluye cetonas y ésteres con puntos de ebullición superiores a aproximadamente 100 °C.

30 Se describen procesos en los que, cuando el PHA es poli-3-hidroxi octanoato, los disolventes de extracción de PHA candidatos se pueden seleccionar entre cetonas, ésteres, alcoholes con al menos cuatro átomos de carbono o alcanos (p. ej., hexano); y los disolventes receptores de PHA candidatos se pueden seleccionar entre metanol, etanol o agua.

35 En ciertas realizaciones, el contacto entre la biomasa y el disolvente de extracción de PHA se puede establecer transfiriendo una cantidad relativamente grande del disolvente de extracción de PHA a la fase de PHA. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la relación entre el volumen de disolvente de extracción de PHA recuperado en la fase de PHA y el volumen de disolvente que se pone en contacto con la biomasa es al menos de aproximadamente 0.8 (p. ej., 0.85, al menos aproximadamente 0.9, al menos aproximadamente 0.95, al menos aproximadamente 0.98 o al menos aproximadamente 0.99). En algunas realizaciones, se puede transferir una cantidad relativamente grande de disolvente de extracción de PHA a la fase de PHA utilizando, por ejemplo, condiciones contracorriente durante la separación del polímero (p. ej., PHA) de la biomasa.

40 En ciertas realizaciones, el contacto entre la biomasa y el disolvente de extracción de PHA se puede establecer transfiriendo una cantidad relativamente pequeña del disolvente de extracción de PHA a la fase de biomasa residual. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la relación entre el volumen de disolvente de extracción de PHA recuperado en la fase de biomasa residual y el volumen de disolvente de extracción de PHA que se pone en contacto con la biomasa es como máximo de aproximadamente 0.2 (p. ej., como máximo de aproximadamente 0.15, como máximo de aproximadamente 0.1, como máximo de aproximadamente 0.05, como máximo de aproximadamente 0.02 o como máximo de aproximadamente 0.01). En algunas realizaciones, se transfiere una cantidad relativamente pequeña del disolvente de extracción de PHA a la fase de biomasa residual utilizando, por ejemplo, condiciones contracorriente durante la separación del polímero (PHA) de la biomasa.

45 En general, la mezcla que contiene el disolvente de extracción de PHA y la biomasa se calienta para aumentar la interacción del disolvente de extracción de PHA con el PHA, de este modo se consigue extraer el PHA de la biomasa.

En general, la temperatura del disolvente de extracción de PHA y la biomasa durante la agitación puede variar según

se desee. En algunas realizaciones, la temperatura es inferior a aproximadamente 160 °C (p. ej., inferior a aproximadamente 125 °C, inferior a aproximadamente 95 °C o inferior a aproximadamente 65 °C) y/o al menos aproximadamente 20 °C. En ciertas realizaciones, la temperatura se encuentra entre la temperatura ambiente y aproximadamente 95 °C (p. ej., entre aproximadamente 40 °C y aproximadamente 80 °C o entre aproximadamente 60 °C y aproximadamente 70 °C). En ciertas realizaciones, la presión se puede regular de modo que sea superior a la presión atmosférica para facilitar la extracción a temperatura elevada (p. ej., superior a 1 atmósfera o de hasta 20 atmósferas).

Por lo general, el esfuerzo de cizalla utilizado cuando se agita el disolvente de extracción de PHA y la biomasa puede variar según se desee. En ciertas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA y la biomasa se mezclan por agitación para reducir el tiempo de disolución. En algunas realizaciones, para facilitar la disolución, se pueden utilizar un propulsor y agitador de alta velocidad (p.ej., un propulsor de álabes planos tal como la turbina Rushton de 6 álabes) a velocidades periféricas, por ejemplo, aproximadamente mayores o iguales a cinco metros por segundo (p. ej., de hasta aproximadamente 10 metros por segundo). En ciertas realizaciones, se puede utilizar un dispersador de alta velocidad con un álabe de bajo perfil a velocidades periféricas, por ejemplo, mayores o iguales a aproximadamente 10 metros por segundo (p. ej., mayores o iguales a aproximadamente 15 metros por segundo o de aproximadamente 20 metros por segundo a aproximadamente 25 metros por segundo).

Normalmente, los dispersadores de alta velocidad tienen un álabe con un borde dentado de sierra o laminado de perfil bajo para generar una cizalla alta a mayores velocidades periféricas. En ciertas realizaciones, se utiliza un sistema rotor/estátor que genera una cizalla relativamente alta (p. ej., a velocidades periféricas de hasta aproximadamente 50 metros por segundo) en el espacio entre un rotor de alta velocidad que gira dentro de un estátor ranurado. En general, la geometría del rotor y el estátor puede variar para ajustarse a aplicaciones particulares y se dispone de muchos diseños en el mercado.

En general, el disolvente de extracción de PHA y la biomasa se agitan hasta que una muestra centrifugada de la mezcla tenga una fase de PHA con un contenido sólido de PHA adecuado. En algunas realizaciones, el disolvente de extracción de PHA y la biomasa se agitan durante menos de aproximadamente tres horas (p. ej., menos de aproximadamente dos horas) y/o al menos aproximadamente un minuto (p. ej., al menos aproximadamente 10 minutos o al menos aproximadamente 30 minutos).

En ciertas realizaciones, la fase de PHA contiene menos de aproximadamente un 0.5 por ciento en peso (p. ej., menos de aproximadamente un 0.25 por ciento en peso o menos de aproximadamente un 0.1 por ciento en peso) de biomasa relativo a la cantidad de PHA disuelto en la fase de PHA.

En algunas realizaciones, la fase de biomasa contiene menos de aproximadamente un 25 por ciento en peso (p. ej., menos de aproximadamente un 20 por ciento en peso o menos de aproximadamente un 15 por ciento en peso) del disolvente de extracción de PHA que estaba presente inicialmente y/o al menos aproximadamente un uno por ciento en peso (p. ej., al menos aproximadamente un cinco por ciento en peso o al menos aproximadamente un 10 por ciento en peso) del disolvente de extracción de PHA que estaba presente inicialmente.

En algunas realizaciones, la fase de PHA tiene una viscosidad relativamente baja. Por ejemplo, esta fase puede tener una viscosidad inferior a aproximadamente 100 centipoise (p. ej., inferior a aproximadamente 75 centipoise, inferior a aproximadamente 50 centipoise, inferior a aproximadamente 40 centipoise o inferior a aproximadamente 30 centipoise). Sin que ello suponga ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que si se prepara la fase de PHA de forma que tenga una viscosidad relativamente baja, esto puede producir una separación relativamente buena de la fase de PHA de la fase de biomasa residual. En particular, se cree que la velocidad de separación de las fases durante la centrifugación es inversamente proporcional a la viscosidad de la fase de PHA de forma que, para un tiempo de centrifugación dado, reducir la viscosidad de la fase de PHA produce una mejor separación de las fases en comparación con ciertos sistemas en los que la fase de PHA tiene una viscosidad mayor.

En ciertas realizaciones, la fase de PHA tiene una concentración polimérica relativamente alta. Por ejemplo, la fase de PHA puede tener una concentración polimérica de al menos aproximadamente un dos por ciento (p. ej., de al menos aproximadamente un 2.5 por ciento, de al menos aproximadamente un tres por ciento, de al menos aproximadamente un 3.5 por ciento, de al menos aproximadamente un cuatro por ciento, de al menos aproximadamente un 4.5 por ciento o de al menos aproximadamente un cinco por ciento).

En algunas realizaciones, la separación del polímero (p. ej., PHA) de la biomasa se puede llevar a cabo utilizando un proceso de una sola etapa. En general, un proceso de una sola etapa es un proceso en el que solamente se utiliza un paso de centrifugación durante la separación del polímero de la biomasa. En general, un proceso de múltiples etapas se refiere a un proceso en el que se utiliza más de un paso de centrifugación durante la separación del polímero (p. ej., PHA) de la biomasa. Por ejemplo, la biomasa residual formada en el proceso de la Fig. 1 se puede tratar y por último centrifugar, para crear de esta forma un proceso de dos etapas.

Se pueden utilizar diversos tipos de dispositivos que explotan la fuerza centrífuga. Como ejemplo, en algunas realizaciones, la centrifugación se lleva a cabo utilizando una centrífuga de discos (p. ej., el modelo SC-6,

comercializado por Westfalia Separator US, Inc. con sede en Northvale, NJ). En ciertas realizaciones, la centrifugación tiene lugar utilizando un decantador (p. ej., el modelo CA-220, comercializado por Westfalia Separator US, Inc. con sede en Northvale, NJ). En algunas realizaciones, se puede utilizar un hidrociclón. En otras realizaciones, se puede utilizar un separador CINC (p. ej., el modelo de CINC V-02, comercializado por Costner Industries con sede en Houston, TX).

En ciertas realizaciones, se puede utilizar un contactor centrífugo contracorriente (p. ej., un contactor centrífugo de Podbielniak, un contactor centrífugo de Luwesta, un decantador contracorriente de Westfalia o un contactor centrífugo de Taylor-Couette). En general, un contactor centrífugo contracorriente se utiliza manteniendo dos (o posiblemente más) corrientes de líquidos en contacto. Una corriente (la corriente de disolvente) comienza como una corriente de líquido con un contenido relativamente alto de disolvente. Otra corriente (la corriente de la biomasa) comienza como una corriente de líquido con un contenido relativamente alto de PHA. Las dos corrientes se ponen en contacto en condiciones contracorriente, de forma que una porción de la corriente de disolvente que tiene el contenido más alto de disolvente se pone en contacto con una porción de la corriente de biomasa que tiene el contenido más bajo de PHA (para mejorar, p. ej., optimizar, la recuperación de PHA de la corriente de biomasa) y/o de forma que una porción de la corriente de biomasa que tiene el contenido más alto de PHA se pone en contacto con una porción de la corriente de disolvente que tiene el contenido más alto de PHA (para mejorar, p. ej., optimizar, la concentración de PHA en la corriente de disolvente). En ciertas realizaciones, esto se consigue haciendo que la corriente de disolvente fluya en dirección opuesta a la corriente de biomasa (condiciones de flujo inverso). Los contactores centrífugos contracorriente se pueden adquirir de, por ejemplo, B&P Process Equipment (Saginaw, MI) y Quadronics. Los ejemplos de contactores centrífugos contracorriente que se comercializan incluyen el contactor centrífugo contracorriente Podbielniak A-1 (B&P Process Equipment) y el contactor centrífugo contracorriente Podbielniak B-10 (B&P Process Equipment).

En general, las condiciones (p. ej., la fuerza o el tiempo) utilizadas para la centrifugación se pueden variar según se desee.

En algunas realizaciones en las que se utiliza una centrífuga de discos, la centrifugación se puede llevar a cabo utilizando al menos aproximadamente 5000 RCF (fuerza centrífuga relativa) (p. ej., al menos aproximadamente 6000 RCF, al menos aproximadamente 7000 RCF o al menos aproximadamente 8000 RCF) y/o menos de aproximadamente 15000 RCF (p. ej., menos de aproximadamente 12000 RCF o menos de aproximadamente 10000 RCF). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un decantador, la centrifugación se puede llevar a cabo utilizando al menos aproximadamente 1000 RCF (p. ej., al menos aproximadamente 1500 RCF, al menos aproximadamente 2000 RCF o al menos aproximadamente 2500 RCF) y/o menos de aproximadamente 5000 RCF (p. ej., menos de aproximadamente 4000 RCF o menos de aproximadamente 3500 RCF). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un contactor centrífugo contracorriente, la centrifugación se puede llevar a cabo utilizando al menos aproximadamente 1000 RCF (p. ej., al menos aproximadamente 1500 RCF, al menos aproximadamente 2000 RCF o al menos aproximadamente 2500 RCF) y/o menos de aproximadamente 5000 RCF (p. ej., menos de aproximadamente 4000 RCF o menos de aproximadamente 3500 RCF).

En algunas realizaciones en las que se utiliza una centrífuga de discos, la centrifugación se puede llevar a cabo durante menos de aproximadamente una hora (p. ej., menos de aproximadamente 30 minutos, menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente cinco minutos o menos de aproximadamente un minuto) y/o durante al menos aproximadamente 10 segundos (p. ej., al menos aproximadamente 20 segundos o al menos aproximadamente 30 segundos). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un decantador, la centrifugación se puede llevar a cabo durante menos de aproximadamente una hora (p. ej., menos de aproximadamente 30 minutos, menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente cinco minutos o menos de aproximadamente un minuto) y/o durante al menos aproximadamente 10 segundos (p. ej., al menos aproximadamente 20 segundos o al menos aproximadamente 30 segundos). En ciertas realizaciones en las que se utiliza un contactor centrífugo contracorriente, la centrifugación se puede llevar a cabo durante menos de aproximadamente una hora (p. ej., menos de aproximadamente 30 minutos, menos de aproximadamente 10 minutos, menos de aproximadamente cinco minutos o menos de aproximadamente un minuto) y/o durante al menos aproximadamente 10 segundos (p. ej., al menos 20 segundos o al menos aproximadamente 30 segundos).

Los métodos para extraer PHA de biomasa se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos de propiedad conjunta N.º: 10/265.861, presentada el 23 de julio de 2003 y titulada "Métodos de extracción de polímeros".

En ciertas realizaciones, el proceso (o porciones del proceso) se puede llevar a cabo de forma continua y/o en serie. Como ejemplo, el proceso puede implicar un proceso rotor/estátor en línea para la disolución, y/o un proceso rotor/estátor en línea para la precipitación del PHA y/o un extrusor desvolatilizante en línea (p. ej., un extrusor Wemer and Pfeleiderer ZSK, suministrado por Coperion Corporation of Ramsey, NJ) para eliminar el disolvente y formar sólidos de PHA (p. ej., pellets).

En algunas realizaciones, el proceso utiliza el disolvente de extracción de PHA y/o el disolvente receptor de PHA de una forma relativamente eficiente. Por ejemplo, al menos aproximadamente un 90 por ciento en volumen (p. ej., al

menos aproximadamente un 95 por ciento en volumen, al menos aproximadamente un 97 por ciento en volumen o al menos aproximadamente un 98 por ciento en volumen) del disolvente utilizado inicialmente se puede recuperar para utilizarlo de nuevo.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.

5 Ejemplo 1

Una pasta de células de *E. Coli* con un contenido de sólidos secos lavados del 30% que contenían un 80% de PHB-co-4HB con un contenido comonomérico de 4HB del 11% se extrajo poniéndola en contacto con MIBK a 80 °C y se separó por centrifugación para obtener una solución que contenía un 4% de polímero disuelto. Posteriormente, un total de 100 mL de esta solución se inyectaron lentamente en un matraz de fondo redondo inmovilizado de 2 L utilizando una jeringa de vidrio con una aguja de 12" del calibre 18 con una velocidad de 2 mL/min. El matraz contenía 1 L de agua DI hirviendo a 30 °C en un vacío de 80 mbar. El matraz se equipó con un agitador dotado de un propulsor de palas de teflón de 50 mm de diámetro y 45°. Se empleó un agitador superior IKA Eurostar para agitar el contenido a 300 rpm.

10 La solución se inyectó a una velocidad de 2 mL/min hasta igualar la velocidad con la que se recogía el destilado. El disolvente se condensó y se recuperaron 75 mL de MIBK. El disolvente remanente se disolvió en el agua o se eliminó a través de la bomba de vacío. El resultado fue una suspensión de gránulos de polímero con un diámetro de aproximadamente 0.5-2.0 mm. Se recogieron un total de 6.3 g de polímero húmedo mediante filtración y se obtuvieron 3.7 g de polímero seco (58.7% de sólido) con poco olor debido al disolvente residual. Se comprobó que la densidad aparente en seco era de 0.450 kg/L, la cual es significativamente mayor de los 0.125 kg/L obtenidos cuando el polímero se precipita en hexano o heptano sin disolvente.

15 Ejemplo 2

Las muestras del polímero precipitado del Ejemplo 1 se lavaron utilizando metanol caliente en un vaso de precipitados agitado a 40 °C durante 20 minutos y después se secaron al vacío. Se prensaron en forma de películas utilizando la muestra seca del Ejemplo 1 y la muestra seca después del paso de lavado con metanol utilizando una prensa Carver a 185 °C, y los resultados se presentan en la Tabla 1.

20 Tabla 1

Muestra en forma de película	Transparencia	Color
Ejemplo 1	Ligeramente opaca	Color amarillo claro
Ejemplo 2	Película transparente	Sin color

Otras realizaciones se encuentran en las reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso para aislar PHA de una biomasa que posee uno o más PHA contenidos en otros materiales asociados a la biomasa que no son PHA, comprendiendo dicho proceso:
  - 5 (a) poner en contacto la biomasa con un disolvente de extracción de PHA para formar una mezcla;
  - (b) agitar la mezcla de biomasa y el disolvente de extracción de PHA para formar una primera combinación que incluye una fase de PHA y una fase de biomasa residual;
  - (c) separar la fase de PHA de la fase de biomasa residual;
  - 10 (d) introducir la fase de PHA en un sistema que contiene un disolvente receptor de PHA, para formar de esta manera una segunda combinación, en la que el disolvente de extracción de PHA es capaz de formar un azeótropo de ebullición mínima con el disolvente receptor de PHA;
  - (e) mantener el sistema a una temperatura y a una presión tales que se eliminan el disolvente de extracción de PHA de la fase de PHA y una porción del disolvente de receptor de PHA de la combinación en el estado gaseoso como una mezcla azeotrópica; y
  - 15 (f) aislar el PHA precipitado de la segunda combinación cuando el disolvente de extracción de PHA se elimina sustancialmente de la combinación,

donde

el disolvente de extracción de PHA se selecciona del grupo conformado por cetonas, ésteres, alcoholes y alcanos,

- 20 el disolvente receptor de PHA es agua y

el disolvente de extracción de PHA tiene un punto de ebullición mayor que el disolvente receptor de PHA.

- 2. El proceso de la Reivindicación 1, donde el disolvente de extracción de PHA es un único disolvente y forma un azeótropo binario con un único disolvente receptor de PHA.
- 3. El proceso de la Reivindicación 1, donde el disolvente de extracción de PHA es MIBK, 2-pentanona, 3-pentanona, ciclopentanona, ciclohexanona o acetato de butilo.
- 25 4. El proceso de la Reivindicación 3, donde el disolvente de extracción es MIBK.
- 5. El proceso de la Reivindicación 1, donde combinar la mezcla de la biomasa y el disolvente de extracción de PHA se consigue agitando.
- 6. El proceso de la Reivindicación 1, donde el PHA aislado se lava además con uno o más disolventes adicionales para eliminar impurezas que puedan seguir presentes.
- 30 7. El proceso de la Reivindicación 6, donde el PHA precipitado y lavado se seca.
- 8. El proceso de la Reivindicación 1, donde el PHA precipitado que aún contiene disolvente se extrude.
- 9. El proceso de la Reivindicación 8, donde el PHA precipitado que aún contiene disolvente se extrude en un extrusor desvolatilizante.

35

FIG. 1

